[AUS DEM HYGIENISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT GIESSEN.]

ZUR KENNTNISS DER BEI HÖHERER TEMPERATUR WACHSENDEN BACTERIEN- UND STREPTOTHRIX-ARTEN.

INAUGURAL-DISSERTATION

DER

HOHEN PHILOSOPHISCHEN FACULTÄT

DER

UNIVERSITÄT ROSTOCK

ZUR

ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

VORGELEGT

VON

THEODOR SAMES
AUS BONAMES (REG.-BEZ. WIESBADEN).

ACAD.
LUGD.BAT.
BIBL.

LEIPZIG,
VEIT & COMP.
1900.

Referent: Privatdocent Dr. Hegler.

Abgedruckt aus
„*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*“. Band XXXIII.

Druck von Metzger & Wittig in Leipzig.

I. Litteratur-Uebersicht.

Vorkommen pflanzlicher Organismen in den Thermen.

Die Thatsache, dass es Mikroorganismen giebt, welche bei hoher Temperatur lebhafte Protoplasmathätigkeit aufweisen, hat schon seit längerer Zeit das Interesse vieler Forscher erregt. Die Anwesenheit niederer Algen und Bacillen in verschiedenen heissen Quellen Europas ist am längsten bekannt;[1] diese Organismen finden sich in den Thermen einzeln und als Zoogloeenmassen und sind häufig bedeckt mit Eisenoxyd, Kalk, Kieselsäure oder Schwefel. Oscillariaarten sind bei 60° gefunden worden, andere Algen sollen sogar noch zwischen 80° und 93° vorkommen.[2] Bei 64° sahen Certes und Garrigon[3] in dem Sprudel von Luchon Stäbchen

[1] Cohn, *Abhandlung der schles. Gesellschaft für vaterländ. Cultur*, 1862 und *Flora*, 1862, S. 338. — *Jahresbericht der schles. Gesellschaft für vaterländ. Cultur*, 1874, Bot. Sect., Nov., S. 32 und 1876, S. 115—118. — *Berichte der deutschen botan. Gesellschaft*, 1893, *Gen. Verslgshft.*, S. 66. — Hansgirg, *Physiol. u. algeol. Studien*, 1887, S. 138.

[2] Pfeffer, *Pflanzenphysiologie*. 1881. Bd. II. S. 432. — Kerner v. Marilaun, *Pflanzenleben*. 1888. Bd. I. S. 517.

[3] *Compt. rend.* 1886. T. CIII. p. 703.

und Fäden; in einiger Entfernung von der Quelle, wo die Wassertemperatur gegen 50° sinkt, fanden sie Zoogloeenmassen. — In der Schwefeltherme Ilidze entdeckte 1892 Karlinski[1] drei verschiedene thermophile Bacillenarten. — Ein Jahr nach dem Erscheinen der Arbeit Karlinski's fand Teich[2] dieselben Bakterien in der Ilidzer Therme nicht mehr vor, dagegen ein anderes Thermobacterium. — Neuerdings untersuchte Miyoshi[3] mehrere heisse Schwefelquellen Japans, in welchen Temperaturgrade bis zu 69·8 herrschen; er fand in denselben viele verschiedenartig gestaltete, oft geisseltragende Bacillen, deren Zoogloeenmassen mit Schwefel inkrustirt waren.

Verbreitung der Thermobakterien in der Natur.

Aus diesen Arbeiten geht zunächst die weite Verbreitung der Thermobakterien in der Natur hervor. Globig hat sie besonders in den oberen Bodenschichten nachgewiesen; er fand diese Keime im Boden nördlicher und südlicher Gegenden, reichlicher jedoch in Bodenproben von Ländern, welche dem warmen Theile der südlichen Halbkugel angehören. — Die meisten Untersuchungen erstrecken sich auf das Vorkommen der Thermobakterien in unserer Hemisphäre. Es hat sich nach den Arbeiten von Macfadyen und Blaxall gezeigt, dass diese Keime auch zu finden sind in Fluss- und Cloakenwasser, Jauche, Faeces, Staub, Stroh, Dünger und im Boden unter Umständen noch in einer Tiefe von 5 englischen Fuss. Da die Thermobakterien sich besonders zahlreich in den Faeces vorfanden, hat Rabinowitsch letztere von warm- und kaltblütigen Thieren untersucht und ausserdem Mund-, Magen-, Dick- und Dünndarminhalt auf das Vorhandensein solcher Keime geprüft. Im Munde und im Magen wurden von dieser Forscherin weit weniger gefunden, als im Dick- und Dünndarm. Auch in Kuhmilch, im Schnee, Luftstaub, Getreide, speciell in keimender Gerste hat Rabinowitsch Thermobakterien gefunden. — Gorini fand den von ihm beschriebenen Bacillus in Milch, welche im Wasserdampf unter Druck sterilisirt war (Druckhöhe und Dauer der Einwirkung der feuchten Wärme ist im Referat[4] nicht angegeben), Laxa in Syrupen, welche Schaumgährung zeigten. — Oprescu isolirte Thermobakterien aus Roquefortkäse und aus Blutserum, welches bei Sterilisirungsversuchen nicht keimfrei zu erhalten war.

---

[1] *Hygienische Rundschau.* 1895. Bd. V. S. 685.
[2] *Hygienische Rundschau.* 1896. Bd. VI. S. 1094.
[3] *Journ. of the Coll. of Science.* Imp. Univ. Tokyo 1897. Vol. X. pt. II. p. 143.
[4] Baumgarten's *Jahresbericht.* 1895. Jahrg. XI. S. 61.

Züchtung von Thermobakterien und Wachsthum auf künstlichen Nährböden.

Mit der Züchtung von Thermobakterien beschäftigte sich zuerst Miquel[1] und van Tieghem.[2] Das wissenschaftliche Interesse wurde aber hauptsächlich erregt durch eine auf Veranlassung von Robert Koch im Jahre 1888 erschienene Arbeit Globig's.[3] Dieser Veröffentlichung von Globig folgten 1894 solche von Macfadyen und Blaxall,[4] 1895 von Rabinowitsch,[5] Gorini[6] und Karlinski,[7] 1896 von Kedzior,[8] 1898 von Laxa,[9] Schillinger[10] und Oprescu.[11]

In Bezug auf das Wachsthum auf festen und in flüssigen Nährböden existiren wie im gesammten Bakterienreiche auch bei den Thermobakterien die mannigfachsten Unterschiede. Auf Agarplatten finden wir runde Colonieen und solche mit Ausläufern, auf Kartoffeln tritt vielfach Pigmentbildung auf. — Flüssige Nährböden zeigen zum Theil Häutchenbildung mit nachfolgender Trübung der Nährsubstrate. — Die meisten Thermobakterien sind facultativ aërob, wenngleich Oprescu drei Arten studirte, welche obligat aërob sind.

Wachsthum bei verschiedenen Temperaturgraden.

Die Wachsthumsmerkmale sind nur von wenigen Forschern eingehend bearbeitet worden, die grössere Zahl beschäftigte sich mit der Feststellung der Temperaturbreite, innerhalb welcher das Wachsthum stattfindet, und des Temperaturoptimums. Nach diesen Untersuchungen lassen sich allgemein gültige Gesetze nicht finden. Bei sehr vielen Arten liegt das Wachsthumsoptimum bei 60 bis 70°, bei anderen wieder bei 50 bis 60°, bei vielen Arten hört das Wachsthum bei 65°, bei wieder anderen erst bei 74° auf. — Die untere Wachsthumsgrenze bietet ebenfalls viele Verschiedenheiten; bei einigen Arten nur ist Wachsthum bei

---

[1] *Annuaires de l'observ. de Montsouris.* 1881. — *Les organism. viv. d. l'atm.* 1883. p. 182. — *Annal. d. Micrograph.* 1888. An. I. p. 4—10.

[2] *Soc. botan. de France.* Bull. T. XXVIII. p. 35.

[3] *Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten.* 1888. Bd. III. S. 294.

[4] *Brit. Med. Journ.* 1894. Vol. II. p. 644. — *Journal of Pathol. a. Bacteriol.* 1894. Vol. III. Nr. 1 p. 87—99.

[5] *Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten.* 1895. Bd. XX. S. 154.

[6] *Giornale della R. Societá d'Igiene.* Nr. 1.

[7] *Hygienische Rundschau.* 1895. Bd. V. S. 685.

[8] *Archiv für Hygiene.* 1896. Bd. XXVII. S. 328.

[9] *Centralblatt für Bakteriologie, Paras. u. Inf.* 1898. Abth. II. Bd. IV. S. 362.

[10] *Hygienische Rundschau.* 1898. Bd. VIII. S. 568.

[11] *Archiv für Hygiene.* 1898. Bd. XXXIII. S. 164.

Zimmertemperatur nachgewiesen, so bei je einer Art von Globig und von Karlinski und bei zwei Arten von Oprescu. Globig fand unter 50° bei den von ihm isolirten Bakterien mit der angegebenen Ausnahme kein Wachsthum; seine Züchtungsversuche beschränkten sich allerdings nur auf Kartoffelculturen. Macfadyen und Blaxall sahen bei 37° und 22° auf verschiedenen Nährböden kein Gedeihen, eine Art begann bei 40 bis 42°, mehrere andere bei 50 bis 52° zu wachsen. Rabinowitsch constatirte für die von ihr bearbeiteten acht Arten, dass bei 33 bis 40° ein Wachsthum stattfindet; bei diesen Temperaturgraden erfolgte dasselbe nur unter anaëroben Versuchsbedingungen. Der thermophile Bacillus von Laxa gedeiht bei 25°, die thermophile Streptothrix von Kedzior und der Gorini'sche Milchbacillus bei 37°, auch die von Schillinger thermotolerante Bakterien genannten vier Arten gediehen bei 37° sehr gut und besser als bei 66°. — Als oberste Grenze, bei welcher kein Bakterienwachsthum mehr stattfindet, ist 75° zu betrachten. van Tieghem isolirte einen Streptococcus, der noch bei 74° gedieh und mehrere bei 70° wachsende Bacillenarten.

Art und Form der bei hoher Temperatur wachsenden Mikroorganismen.

Alle Untersuchungen haben ergeben, dass wir es im Allgemeinen mit Stäbchenformen zu thun haben; Ausnahmen bilden der van Tieghem'sche Streptococcus, ferner der von Cohn[1] bei der Erhitzung der Baumwolle gefundene Micrococcus und die mit den Bakterien verwandten Streptothrixarten von Globig, Kedzior und Pretti.[2] (Die der Gattung der Schimmel- und Sprosspilze angehörenden Mikroorganismen vermögen, so weit bis jetzt bekannt ist, bei Temperaturgraden von 50 bis 70° nicht mehr zu gedeihen.) Unter den Thermobakterien treffen wir Kurz- und Langstäbchen von verschiedener Breite, die zum Theil Beweglichkeit zeigen; vielfach tritt Neigung zur Fadenbildung auf. Mit wenigen Ausnahmen, von Macfadyen und Blaxall ist nur eine solche beobachtet, bilden diese Bacillen Sporen.

Sporen, deren Bildung und Widerstandsfähigkeit.

Auch die Sporen differiren bei den verschiedenen Arten; wir haben grosse und kleine, ovale und runde, end- und mittelständige. Die Sporenbildung erfolgt theils mit, theils ohne Verbreiterung der Mutterzelle und

---

[1] *Berichte der deutschen botan. Gesellschaft.* 1893. Gen.-Verslgshft.

[2] Günther, *Einführung in das Studium der Bakteriologie.* 1898. S. 22.

ist sowohl unter aëroben, als auch anaëroben Verhältnissen beobachtet worden. Rabinowitsch, welche die Sporen der von ihr isolirten Arten auf ihre Resistenz untersuchte, fand dieselben sehr widerstandsfähig gegen Trockenheit und strömenden Dampf (5 bis 6 Stunden). Auch die Sporen des von Laxa gefundenen Bacillus zeigten sich nach 15 Minuten dauernder Einwirkung feuchter Hitze von 100° (Ausdruck von Laxa) noch lebensfähig; weitere Prüfungen scheint Laxa nicht unternommen zu haben.

Chemische Veränderungen der Nährmedien.

Vielfach studirt und von grossem Interesse sind die chemischen Veränderungen der Nährsubstrate. Macfadyen und Blaxall fanden, dass einige der von ihnen bearbeiteten Arten die Gelatine peptonisirten, andere Milch zur Gerinnung brachten; wieder andere bewirkten Umwandlung der Stärke in Zucker. In Bouillon entstand häufig Indol, manchmal auch Schwefelwasserstoff. — Die acht von Rabinowitsch bearbeiteten Arten bilden in Bouillon theils Alkali, theils Säure. In Bouillon, welche einprocentigen Zusatz von Kaliumnitrat erhalten hatte, entstand nach Einwirkung einiger Bakterien Reduction desselben in Nitrit. Bildung von Kohlensäure war nur in geringer Menge zu bemerken, auffallender Weise mehr in einfacher Bouillon, als in solcher mit Traubenzuckerzusatz. Der von Laxa studirte Bacillus reducirt Nitrate, invertirt Saccharose; Bouillon und Asparaginlösung werden unter Bildung von Ammoniak stärker alkalisch; Kohlehydrate enthaltende Nährsubstrate werden sauer unter Bildung von Kohlendioxyd und Milchsäure. — Schillinger, welcher Milch, Bouillon, Milchzucker- und Traubenzuckerbouillon mit Erde versetzte und die so beschickten Röhrchen in den Thermostaten bei 66° stellte, erhielt bei dieser Temperatur lebhafte Gährungserscheinungen. Es gelang Schillinger nicht, mit den bei 37° gezüchteten Reinculturen, welche aus den in Gährung befindlichen Flüssigkeiten stammten, wieder Gährung bei 66° hervorzurufen, wohl aber bei 37°. — Oprescu beschäftigte sich eingehend mit den durch die Lebensthätigkeit der Bacillen entstandenen Enzymen. Diese bildeten sich besser bei 41°, als bei 55° und besser in Bouillon, als in Gelatine. Letztere wurde stets verflüssigt, nachdem durch vorherige Einwirkung von Carbolsäure auf die Culturen und durch Thymolzusatz zur Gelatine der Einfluss lebender Bakterien ausgeschaltet war. Die Culturen zeigten die Anwesenheit eines proteolytischen, jedoch keines diastatischen Enzyms. Nachdem aber das Ferment, hergestellt aus der Cultur einer Bacillenart, durch mehrfaches Fällen mit Alkohol von den vorhandenen Eiweissstoffen möglichst getrennt war, zeigte es in Lösung Fibrinflocken und Stärke gegenüber die Eigenschaften eines

proteolytischen und die eines diastatischen Enzyms. Die Fermentlösung verlor beim Erwärmen auf 88° die diastatische Wirkung. (Die Fermente waren nicht von den Salzen befreit.) Dass das proteolytische Ferment aus Fibrin wirklich Pepton zu bilden vermag, weist Oprescu mittels der Biuretreaction nach. Die Fermentlösung zeigte diese Reaction nicht; nachdem die Lösung aber auf Fibrin eingewirkt hatte, die Albumine, Albumosen und Globuline mit Ammoniumsulfat, dieses durch Baryumhydrat und letzteres wieder durch verdünnte Schwefelsäure entfernt waren, wies Verfasser in der eingedampften Flüssigkeit durch positiven Ausfall der Biuretprobe Pepton nach. — Die sehr interessante Arbeit Oprescu's lässt die bakteriologische Prüfung vermissen, ob nach der Carbolsäure- und Thymolverwendung wirklich die Abwesenheit keimfähiger Sporen erreicht wurde, da die bearbeiteten enzymbildenden Bakterien Sporen bilden, die möglicher Weise resistent sind und durch ihre von Oprescu festgestellte Eigenschaft, bei Zimmertemperatur auszuwachsen, die Versuche störend beinflussen konnten.

Vorstellungen über das Verhalten der Thermobakterien in der Natur.

Ueber die Frage, wo die bei hoher Temperatur am besten wachsenden Bakterien in der Natur die zu ihrer Entwickelung günstigen Bedingungen finden, haben zahlreiche Erörterungen stattgefunden. Globig nimmt an, diese Mikroorganismen kämen nur in den obersten Bodenschichten vor und die Sonne schaffe hier durch ihre Wärme die zum Wachsthum der Bakterien nöthige Temperatur. Macfadyen und Blaxall, auch Rabinowitsch vertreten die Ansicht, dass die Thermobakterien bei den oft in der Natur vorkommenden, mit der Entwickelung hoher Temperatur verbundenen und durch die gewöhnlichen Fäulnissorganismen veranlassten Gährungserscheinungen günstige Wachsthumsbedingungen finden und dass sie secundär bei den Gährungsvorgängen mitwirken. Cohn schreibt der Wirkung dieser Bakterien die Selbsterhitzung von Baumwolle, Dünger, Heu, Malz, Stroh, Tabak u. s. w. zu. Warrington[1] fand in den Silos eine Temperatur von 60 bis 71°. — An dieser Stelle möchte ich auch daran erinnern, dass eine australische Hühnerart, welche die Brutfähigkeit verloren hat (Talegallus lathami),[2] die in Haufen von Pflanzenresten entstehende Wärme zur Ausbrütung ihrer Eier benutzt; der männliche Vogel übernimmt dabei die Regulirung der Wärme und schützt durch Lüften des Deckels der Brutstätte das Gelege vor Schädigung.

[1] *Brit. Med. Journal.* 1894. Vol. II. p. 644. (Ref. v. Macfadyen u. Blaxall.)
[2] Brehm's *Thierleben.* Aufl. 3. Bd. II. (Vögel.)

— Schlösing[1] stellte auf Grund eingehender Messungen fest, dass durch Bakterien in Düngerhaufen bei 60 bis 66° siebzehn Mal mehr Kohlendioxyd producirt wird, als in sterilisirten. Auch Schillinger bezeichnet die Gährwirkung der Thermobakterien als bedeutend; er glaubt, dass diese Mikroorganismen bei normaler Temperatur günstige Entwickelungsbedingungen finden und dass sie die Lebenszähigkeit besitzen, mehrere Generationen hindurch bei hoher Temperatur vermehrungsfähig zu bleiben. Das Gedeihen bei hoher Temperatur hält Rabinowitsch für Anpassung.

II. Eigene Untersuchungen über Thermobakterien.

Wie wir aus Vorgehendem ersehen, haben sich in Bezug auf die erörterten Fragen bis jetzt keine allgemein gültigen Gesetze ergeben; zur völligen Klärung bedarf es noch eingehender Untersuchungen. Auf Anregung meines hochverehrten Lehrers, des Hrn. Geheimen Medicinalrathes Prof. Dr. Gaffky, dem ich an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank für die liebenswürdige Unterstützung bei der Arbeit ausspreche, habe ich versucht, etwas zur Lösung der noch offenen Fragen beizutragen. — Zu dem Zwecke habe ich mehrere Arten von Thermobakterien gezüchtet und darunter acht Bacillenarten genauer untersucht; die Wachsthumsverhältnisse und Eigenschaften dieser Mikroorganismen sind in den folgenden Tabellen zusammengestellt.

Herkunft der vom Verfasser untersuchten Thermobakterien.

Auf Grund meiner Untersuchungen kann ich zunächst die weite Verbreitung der Thermobakterien in unserer Umgebung bestätigen. Von den in der Tabelle angeführten Bacillen stammen vier (I, II, VI und VIII) aus Erde, einer aus Luft (VII), die anderen aus wässeriger Lackmustinctur (V), ungekochter Milch (IV) und Vaginalschleim (III); ausserdem habe ich Thermobakterien isolirt aus Kehricht, Stroh, Jauche, Wasser, aus dem Mundschleim, Smegma und aus Fäces. Auf Kartoffeln, die mit Erde inficirt waren, habe ich neben Colonieen von verschiedenartigem Aussehen öfters die weissen Colonieen der von Globig beschriebenen Streptothrixart beobachtet; auch der obstartige Geruch der Kartoffeln trat häufig auf. In einem durch Erde inficirten Gährröhrchen mit Traubenzuckerbouillon erhielt ich bei 66° starke Gasentwickelung; ein bei 22°, 37°, 57° und 66° Gährung erregender Bacillus konnte aus dieser Flüssigkeit isolirt werden.

[1] *Annal. agron.* 1892. T. XVIII. p. 5.

Nr. Herkunft	Form Grösse	Beweglichkeit	Färbeverhalten	Sporen	Chemisches Verhalten	Wachsthum Agar (Platten-, Schräg- u. Stichculturen), Glyc.-Agar 2 Proc. Traubenzuckeragar u. Gelatine
I. Aus Erde.	Bei Beginn des Wachsthums bilden d. Bacillen lange gerade od. gewundene Fäden, die vor der Sporenbildung in Einzelstäbchen zerfallen. Länge des Bacillus = 4 bis 5 μ, Breite = 0·6 μ.	Schwach beweglich.	Färbt sich in jungem Stadium gut, im älteren lückenhaft, a. n. Gram.	Länge = 1·8 μ Breite = 0·6 „ Endständig. Sie bilden sich ohne sichtbare Verbreiterung d. Mutterzelle. — Doppelfärbung der Bac. mit Sporen gelingt nach 6 Minuten m. dampfendem Anilinwasserfuchsin, 1 Min. Entfärben in 3 Proc. Salzsäurealkohol u. 1 b. 2 minut. Nachfärben m. Methylenblau. — Bei 750.2mm (auf 0° reduc.) halten sie 3 Stunden 10 Minuten den strömenden Wasserdampf aus (Sporen bei 62° gebildet).	In Milch schw. Säure-, in Bouillon schwache Alkali- u. Indolbildung. In 1 Proc. Stärke-Peptonbouillon entsteht etwas Säure u. auf Zusatz von $^1/_3$ Proc. Jodlösung schwächere Blaufärbung als bei Controle.	62° u. 56°: Hellgraue Au läufercolonieen, welche d Platte bei 62° oft schon nac 6 Stunden überwuchern zu dieser Zeit Sporen en halten. Wachsthum oft ei blumenartig, Ausläufer e was gelockt. — Auf Schräg cultur ist der Belag mel gelbbraun und schleimi — Längs des Stiches zarte hellgrauer Faden, an d Stichöffnung dichter, bräu licher, mattglänzender B lag; die gleiche Erscheinun in Zuckeragar, doch For kommen hier weniger üppi — Auf Glycerinagar Wach thum wie auf Agar. — G latine bei 56° wird nac 24 Stunden flockig getrül unter Bildung eines Häu chens; sie ist nach 6 Tage nicht peptonisirt. 37°: Nach 3 Tagen a Schrägagar zuweilen sel kleine, hellgraue Colonieer die nach 5 Wochen noc nicht an Grösse zunehme Sporen nicht vorhanden. 22°: Nach 9 Wochen Wach thum nicht erkennbar.

ei hoher und niederer Temperatur

Kartoffel	Pepton-		Milch	Harn (alk.)	Wachsthum anaërob
	Bouillon	Kochsalzlösung			
°u. 56°: Mit unbewaffnetem Auge achsthum schlecht ennbar, nach 5 Tan lässt sich mit atinöse bisweilen ein auer, zarter Belag schaben. Die Bacilen waren einzeln oder elfach in kurzen Fän, sehr viele granut. Auf alkalisch geachten Kartoffeln ist s Wachsthum etwas sser, als auf Kartofn von gewöhnlicher Reaction.	62° u. 56°: Nach 24 Std. zartes, grauweisses Häutchen, nach 2 b. 3 Tagen Trübung der Bouillon und schliesslich dicker, schmutzigweiss. Bodensatz. Einige Bacillen hatten Sporen. In 2 Proc. Traubenzuckerbouillon ebenfalls gutes Gedeihen.	62° u. 56°: Wachsth. wie in Bouillon. Wenige Bacillen m. Sporen.	62° u. 56°: Wachsth. gut, weniger üppig, als in Bouillon. Die Milchgerinnt nicht.	62° und 56°: Wachsth. gut, sehr viele Bac. mit Sporen.	62° und 56°: Wächst nicht so gut, als aërob. Nach 6 Tagen waren in den Colonieen meist Krümel vorhanden, Sporen niemals.
°: Wachsthum selbst ht nach 9 Wochen vorgefunden.	37°: Nach drei Wochen bisweilen sehr schwaches Wachsthum bemerkb., nur wenige Bacillen waren vorhanden.	37°: Kein Wachsth. nach sechs Wochen.	37°: Nach 3 Wochen einige wenige Bacillen vorgefunden.	37°: Nach 9 Tagen geringer feiner Bodensatz. Meist granulirte, vielfach auch normal aussehende Bacillen.	37°: Nach vier Wochen kein Wachsthum.
22°: Nur sehr beränktes, mikroskoch wahrnehmbares, r vegetirendes Fortmmen. Die Unterhung im hängenden pfen ergiebt nach Tagen und nach Wochen neben vielen nulirten auch die wesenheit normal ssehender und zuilen zu kurzen Fäi vereinigter Bacillen.	22°: Kein Gedeihen nach 6 Wochen.			22°: Befund wie in Harn bei 37°, doch weniger Bacillen.	22°: Nach vier Wochen kein Wachsthum.

Nr. Herkunft	Form Grösse	Beweglichkeit	Färbeverhalten	Sporen	Chemisches Verhalten	Wachsthum- Agar (Platten-, Schräg- u. Stichculturen), Glyc.-Agar, 2 Proc. Traubenzuckeragar u. Gelatinn
II. Aus Eiter einer m. Erde inficirten und an Tetanus verendeten Maus.	Wie bei Bacillus I Fadenbildung vor der Sporulation. Länge = 3 bis 4 μ. Breite = 0·35 bis 0·4 μ.	Schwach beweglich.	Wie bei Bac. I.	Länge = 1·3 μ Breite = 0·4 „ Endständig, gebildet ohne Verbreiterung der Mutterzelle. Doppelfärbung gut wie bei I. — Resistenz gegen Dampf bei 743·7 mm (0°) = 2 Std. 50 Min. (Sporen bei 62° gebildet.)	In Bouillon u. Milch Alkalibildung. In Peptonkochsalzlösung u. Bouillon entsteht Indol, in letzterer bisweilen auch Nitrosoindol nach 15 Tagen, doch schwach. — Stärkebouillon zeigt sauere Reaction, auf Jodzusatztritt Blaufärbung ein, die in wenigen Secunden in Rothviolet übergeht (Erythrodextrin).	62° u. 56°: Ausläufercolonieen wie bei I, Ausläufe nur zarter und Lockung weniger ausgeprägt. Ueberwucherung der Platten oberfläche, Zerfall in Einzelstäbchen und Sporenbildung oft schon nach 4 St bei 62°. — Auf Schrägcultur grauer, schleimiger auf der Oberfläche der Stich cultur mehr brauner Belag Im Stichcanal Wachsthum kaum bemerkbar, etwa besser sichtbar in Zucker agar. Auf Glycerinagar Wachsthum gut. — Verhalten des Bacillus in Gelatine wie das des I. (Bacillus II ähnelt in manche Beziehung dem Bacillus und scheint eine Abart de I zu sein.) 37°: Nach 2 bis 3 Tagen bisweilen winzige Pünktchen auf Schrägagar, diese selben nahmen in den nächsten Tagen an Grösse nich zu. Nach 11 Wochen waren die früher vorgefundenen Bacillen meist granulir und ohne Sporen. 22°: Die gleiche Erscheinung wie auf Agar bei 37°

bei hoher und niederer Temperatur

Kartoffel	Pepton-		Milch	Harn (alk.)	Wachsthum anaërob
	Bouillon	Kochsalzlösung			
62° u. 56°: Langames Gedeihen, nach 14 Tagen feuchter, brauner Belag. Kartoffeln riechen obstartig, bisweilen bildet sich in geringer Menge ein purpurrothes Pigment. Bacillus liebt Kartoffel von alkalischer Reaction.	62° u. 56°: Wachsthumsverhältnisse wie bei I, doch erfolgt Häutchenbildung schneller. Nach 40 Stunden ist dasselbe ziemlich stark. Viele Bacillen hatten Sporen. — Bac. II gedeiht gut in Traubenzuckerbouillon.	62° u. 56°: Wachsth. gut, wie in Bouillon.	62° u. 56°: Wachsth. nicht so gut wie in Bouillon.	62° u. 56°: Wachsthum s. gut, viele Bacillen mit Sporen.	62° u. 56°: Wächst langsamer, als aërob bei dieser Temperatur. Nach 4 Tagen waren sehr wenige Bacillen mit Sporen vorhanden, meist hingen die Bac. zu zweien an einander.
37°: Nach 2, 4 und 6 Wochen Wachsthum niemals erkennbar.	37°: Noch n. 6 Woch. nichts von Wachsthum bemerkbar.	37°: Wie in Bouillon bei dieser Temperatur kein Wachsthum.		37°: Nach 14 Tagen geringer weisslicher Bodensatz, in diesem wenige Bacillen von zum Theil normalem, z. Theil granulirtem Aussehen.	37°: Nach 6 Tagen kleine Colonieen m. sporentragenden Stäbchen.
22°: Nur sehr beschränktes, mikroskopisch wahrnehmbares Vorkommen. Resultat desselbe wie bei Bac. I.	22°: Wie bei 37° in diesen Nährböden kein Wachsthum.			22°: Wachsthumsverhältnisse wie bei 37° in diesem Nährboden; es wurden mehr Bacillen, wie b. 37° vorgefunden. Diese waren oft zu kurzen Fäden vereinigt.	22°: Nach 4 Wochen kein Wachsthum.

Nr. Herkunft	Form Grösse	Beweglichkeit	Färbeverhalten	Sporen	Chemisches Verhalten	Wachsthum Agar (Platten-, Schräg- u. Stichculturen), Glyc.-Agar, 2 Proc. Traubenzuckeragar u. Gelatine
III. Aus dem Scheidenschleim einer Schwangeren.	Fadenbildung, dann Zerfall in Einzelstäbchen vor der Sporulation. Länge = 3 bis 4 μ Breite = 0·6 μ.	Schwach beweglich	Wie bei Bac. I.	Länge = 1 bis 1·5 μ. Breite = 0·3 μ. End-, seltener mittelständig, in letzterem Falle Verbreiterung der Mutterzelle. — Doppelfärbung gelingt. — Resistenz der bei 62° gebildeten Sporen gegen Dampf bei 740,7 mm (0°) = 25 Minuten.	In Milch deutliche Alkalibild. schwächer in Bouillon. In letzterer und in Peptonkochsalzlösung Nitrosoindol; die Rothfärbung verstärkt sich bedeutend auf Zusatz von Nitrit. — Stärkebouillon war nach 3 Wochen sauer und zeigte auf Jodzusatz Rothvioletfärbung (Erythrodetrin.)	62° u. 56°: Wie Eisblumen sich ausbreitende, grauweisse Colonieen mit zahlreichen, unter dem Mikroskope dicken, zopfartig gewundenen Ausläufern, welche die Plattenoberfläche rasch überwuchern. Die Sporulation erfolgt so rasch wie bei Bac. I. — Auf Schrägculturen weissgraue zäher Belag, ebenso auf Stichculturen, im Stickcanal selbst kein Wachsthum, desgleichen in Zuckeragar. — Auf Glycerinagar Wachsthum gut. — In Gelatine sind die Wachsthumsverhältnisse die gleichen, wie bei Bac. I; Peptonisirung erfolgt nicht. 37°: Auf einigen Agar- und Glycerinagarschrägcult. winzige Colonieen, wie bei Bac. I und II. 22°: Wie bei 37° bisweilen schwaches Gedeihen.

bei hoher und niederer Temperatur

Kartoffel	Pepton-		Milch	Harn (alk.)	Wachsthum anaërob
	Bouillon	Kochsalzlösung			
2° u. 56°: Weisslich is schwach gelblichrauer trockner, erabener Belag. Bacilen in krummen Fäden oder einzeln mit Sporen.	62° u. 56°: Wachsthumsvorgang wie bei Bac. I.	62° u. 56°: Wachsthum gut, viele Bacillen mit Sporen.	62° u. 56°: Wachsthum gut, die Milch gerinnt.	62° u. 56°: Wachsthum nicht so gut, wie in den anderen Flüssigkeiten; Harn und Traubenzuckerharn sind schwach getrübt.	62° u. 56°: Wachsthum gut, doch nicht so üppig wie aërob; Sporen nicht gefunden.
7°: Wachsthum mit nbewaffnetem Auge chterkennbar; mikroopisch wahrnehmbares Vegetiren.	37°: Wachsthum selbst nicht nach 6 Wochen nachzuweisen.			37°: Nach 24 Tagen wenige Bacillen, ebenso im Traubenzuckerharn.	37°: Nach 4 Wochen niemals Wachsthum.
2°: Wie bei 37°, doch mehr normal aushende Bacillen vorhanden.	22°: Derselbe Befund wie bei 37°.		22°: Nach 4 Wochen einige wenige Bacillen vorhanden.	22°: Kein Wachsthum, dagegen in Traubenzuckerharn und viel besser als bei 37° in dieser Flüssigkeit. Dieselbe ist getrübt und enthält viele Bacillen.	22°: Nach 4 Wochen niemals Wachsthum.

Nr. Herkunft	Form Grösse	Beweglichkeit	Färbeverhalten	Sporen	Chemisches Verhalten	Wachsthum Agar (Platten-, Schräg- u. Stichculturen), Glyc.-Agar 2 Proc. Traubenzuckeragar u. Gelatine.
IV. Aus ungekochter Milch.	Neigung zur Fadenbildung weniger ausgeprägt, wie bei I, II u. III, die Fäden sind meist kurz. Länge = 4 μ Breite = 0·6 μ.	Beweglich	Wie bei Bac. I.	Länge = 1·5 μ Breite = 0·5 „ Köpfchensporen, die sich unter Verbreiterung der Mutterzelle bilden. — Doppelfärbung gelingt. Resistenz der bei 56° gebildeten Sporen gegen Dampf bei 746·1 mm (0°) = 15 Minuten.	In Bouillon, Peptonkochsalzlösung u. Milch Bildung von Alkali. In Bouillon schöne Nitroseindolreaction, in Peptonkochsalzlösung Indol. — Stärkebouillon war nach 3 Wochen stärker alkalisch als Controle. Auf Jodzusatz entstand rasch schwindende Blau- oder Rothfärbung. — Gelatine wird nach 12 Tagen bei 56° peptonisirt und Milch zur Gerinnung gebracht.	62° u. 56°: Wächst nicht auf jedem Agar von gleicher Reaction, der Bac. verlangt eine bestimmte Zusammensetzung des Fleischwassers zu gutem Gedeihen. — Die Sporenbildung bei 56° ist üppiger, als bei 62°. — Colonieen sind weiss, rund und erscheinen unter dem Mikroskope fein gekörnt mit zarten, kurzen Ausläufern. Die tiefliegenden Colonieen haben dunkles Aussehen und sind von verschiedener Form, rund bis wetzsteinförmig. — Auf Schrägculturen und an der Oberfläche der Stichculturen entsteht ein mattweisser, schleimiger Belag. Im Stickcanal ist das Wachsthum sehr gering, ebenso in Zuckeragar. — In Gelatine gutes Wachsthum, ähnlich dem in Bouillon. 37°: Nach 30 Tagen auf wenigen Schrägculturen sehr kleine Colonieen, in diesen viele Sporen. 22°: Mit unbewaffnetem Auge Wachsthum nicht erkennbar. Die mikroskopische Untersuchung im hängenden Tropfen ergiebt nach 6 Wochen die Anwesenheit normal aussehender Bacillen und solcher in sehr kurzen Fäden.

bei hoher und niederer Temperatur

Kartoffel	Pepton-		Milch	Harn (alk.)	Wachsthum anaërob
	Bouillon	Kochsalzlösung			
32° u. 56°: Dicker, butter- bis orangegelber Belag. Bacillen kräftig entwickelt und sporentragend. Bei 56° ist die Sporenbildung besser als bei 62°.	62° u. 56°: In zusagender Bouillon Wachsthumsverhältnisse wie bei I. Nach 17 Tagen sehr viele Bacillen mit Sporen.	62° u. 56°: Wächst gut, wie in Bouillon; viele Sporen.	62° u. 56°: Wächst sehr gut, viele Sporen; die Milch gerinnt.	62° u. 56°: Wachsthum stets schlecht.	62° u. 56°: Wachsthum nicht so gut, wie aërob; Sporen nicht gefunden.
37°: Nur sehr beschränktes, mit bloßem Auge nicht wahrnehmbares Gedeihen.	37°: Wachsthum selbst nicht nach 6 Wochen nachweisbar.				37°: Nach 4 Wochen kein Wachsthum.
22°: Wie bei 37° auf diesem Nährboden.	22°: Wachsthum selbst nicht nach 6 Wochen nachweisbar.				22°: Kein Wachsthum.

Nr. Herkunft	Form und Grösse	Beweglichkeit	Färbeverhalten	Sporen	Chemisches Verhalten	Wachsthum: Agar (Platten-, Schräg- u. Stichculturen), Glyc.-Agar, 2 Proc. Traubenzuckeragar u. Gelatine
V. Aus wässeriger Lacmuslösung.	Fadenbildung, vor der Sporulation Zerfall in Einzelstäbchen. Länge = 2 bis 2·5 μ. Breite = 0·3 bis 0·5 μ.	Gut beweglich.	Wie bei I. — Mit Fuchsinlösungen behandelt, halten die Bacillen die aufgenommene Farbe gegen Salzsäurealkohol fest.	Länge = 0·8 μ. Breite = 0·5 μ. Meist mittelständig. Bildung erfolgt unter Breiterwerden der Mutterzelle. — Sie färben sich leicht. — Resistenz der bei 62° gebildeten Sporen gegen Dampf bei 747·5 mm (0°) = 210 Secunden; der bei 37° gebildeten bei 750, 6 mm (0°) = 60 Secunden.	In Bouillon bisweilen schwach Säure und Nitroseindol, Rothfärbung wird verstärkt auf Zusatz von Nitrit. — Stärkebouillon wurde etwas stärker alkalisch, als Controle; mit Jodlösg. tritt alsbald schwindende Blaufärbung ein. — Glycerinagar riecht zersetzt. — Gelatine ist nach 6 Tagen bei 56° peptonisirt.	62° u. 56°: Im auffallenden Lichte weissliche wolkige Trübungen, die, mikroskopisch besehen, aus einem gelblichen Centrum mit zahlreichen dünnen Ausläufern bestehen. Die Ausläufer erscheinen etwas gelockt, die tiefliegenden zeigen knollige Formen. — Auf der Oberfläche der Stich- und Schrägculturen ist der Belag grauweiss und von zäh-schleimiger Consistenz. Im Stichcanale kein Wachsthum, desgleichen in Traubenzuckeragar. — Auf Glycerinagar gutes Gedeihen, ebenso in Gelatine.
						37°: Weisse, runde Colonieen, die zum Theil kräftiger entwickelte Bacillen, als bei höherer Temperatur enthalten. Nach 2 bis 3 Tagen viele Sporen.
						22°: Mit blossem Auge Wachsthum nicht erkennbar. Die mikroskopische Untersuchung ergiebt noch nach 6 Wochen die Anwesenheit zahlreicher, gut entwickelter Bacillen.

ei hoher und niederer Temperatur

Kartoffel	Pepton-		Milch	Harn (alk.)	Wachsthum anaërob
	Bouillon	Kochsalzlösung			
°° u. 56°: Schwaches, mit unbewaffnetem ıge nicht erkennbares Gedeihen.	62° u. 56°: Wächst gut, wie Bac. I.	62° u. 56°: Wächst nicht immer; im günstigsten Falle nur schwach.	62° u. 56°: Wachsthum nach 3 Wochen nicht bemerkbar.	62° u. 56°: Wachsthum gut, desgl. in Zuckerharn.	62° u. 56°: Wächst langsamer als anaërob bei diesen Temperaturgraden. Sporen nicht gefunden.
7°: Selbst nach 9 Wo- ıen nichts von Wachsthum bemerkbar.	37°: Gutes Wachsthum, nach 8 Tagen lange Bacillenfäden.	37°: Wachsthum selbst nicht nach 9 Wochen zu erkennen.		37°: Schleimig zäher Bodensatz nach 9 Tagen, viele bewegliche Bacillen, ebenso in Zuckerharn. Später Flüssigkeiten deutlich getrübt.	37°: Wächst ebenso gut wie aërob bei dieser Temperatur; Sporen wurden jedoch nicht gefunden, Bacillen meist in Fäden.
°: Wie auf Agar bei dieser Temperatur.	22°: Wachsthum selbst nicht nach 9 Wochen erkennbar.			22°: Nach 9 Tagen in Harn und in Zuckerharn gut wie bei 37°.	22°: Wachsthum selbst nicht nach 4 Wochen erkennbar.

Nr. Herkunft	Form und Grösse	Beweglichkeit	Färbeverhalten	Sporen	Chemisches Verhalten	Wachsthum: Agar (Platten-, Schräg- u. Stichculturen), Glyc.-Agar 2 Proc. Traubenzuckeragar u. Gelatine.
VI. Aus Eiter einer mit Erde inficirten und an Tetanus verendeten Maus.	Fadenbildung. Vor der Sporulation sehr häufig kein Zerfall in Einzelstäbchen. Fäden oft sehr lang. Länge = 3 bis 3·5 μ. Breite = 0·4 bis 0·5 μ.	Beweglich.	Wie bei I. Die Bacillen besitzen zum Theil die Fähigkeit (mit Fuchsinlösung behandelt), die aufgenommene Farbe auch gegen Säurealkohol festzuhalten.	Durchmesser 0·4 μ. Runde, bisweilen auch ovale, mittel- oder endständige Sporen, die sich ohne sichtbare Verbreiterung der Mutterzelle bilden. Sie färben sich etwas schwerer, als die Sporen der anderen Thermobakterien. — Resistenz der bei 62° gebildeten Sporen gegen Dampf bei 746·1 mm (0°) = 13 Minuten, der bei 37° gebildeten bei 745·3 mm (0°) = 2 Minuten.	In Bouillon starke Alkali- und Indolbildung. — Stärkebouillon reagirt alkalischer, als Controle und auf Jodzusatz entsteht rasch schwindende Blaufärbung. — Gelatine bei 56° ist nach 6 Tagen vollständig, solche bei 22° nach 8 Wochen theilweise peptonisirt.	62° u. 56°: Bacillus lieb etwas stärker als gewöhn lich alkalisirten Agar. — Im auffallenden Licht runde, weisse Colonieen meist aber zarte, grauweiss mit verästelten Ausläufern die Neigung zur Bildung verschieden geformter Schleifen zeigen. — Ober fläche der Schräg- und Stich culturen ist bedeckt mi grauweissem, schleimiger Belage; im Stichcanale ent steht feiner, grauweisse Faden mit kurzen, zarte Ausläufern in den umge benden Nährboden. — I Zuckeragar: Wachsthum schlecht. — In Gelatine Wachsthum gut. 37°: Weisse, runde Colo nieen, die nach 3 Tage viele sporentragende Bacil len enthalten. — Im Stich canale tannenartiges Wachs thum, an der Stichöffnung blattartig, von weissliche Farbe; Culturen riechen häufig nach Mäuseharn. 22°: Wachsthum nach Wochen mit blossem Aug nicht erkennbar. — In Ge latine nach 2 Wochen Trü bung, nach 8 Wochen an der Oberfläche beginnend Verflüssigung des Nähr bodens. Viele Bacillen vor handen, diese vielfach in kurzen, oft gewundene Fäden.

bei hoher und niederer Temperatur

Kartoffel	Pepton-		Milch	Harn (alk.)	Wachsthum anaërob
	Bouillon	Kochsalzlösung			
2° u. 56°: Zuweilen angsames Wachsthum uf gewöhnlicher und lkalischer Kartoffel, ann nach 14 Tagen dunkelgrauer bis bräunlicher Belag. Wenige Sporen.	62° u. 56°: Gedeiht am besten in stärker alkalisirter Bouillon. Wachsthumsvorgang wie bei Bac. I.	62° u. 56°: Gedeihen gut, Bacillen meist in Fäden, wenige mit Sporen.	62° u. 56°: Nach 14 Tagen geringes Wachsthum.	62° u. 56°: Wachsthum gut; zäher, schleimiger Bodensatz, desgl. in 2Proc. Zuckerharn.	62° u. 56°: Wachsthum nicht so gut als aërob. Nach 7 Tagen viele Krümmel, keine Sporen.
7°: Wachsthum selbst ach 2 Monaten nicht erkennbar.	37°: Selbst nach 4 Wochen nichts von Wachsthum erkennbar.		37°: Nach 4 Wochen wenige Bacillen vorhanden.	37°: Nach 10 Tagen zäher, schleimiger Bodensatz; Wachsthum besser noch in Zuckerharn, dieser deutlich trübe; viele bewegliche Bacillen.	37°: Bisweilen schon nach 24 Stunden sichtbares Wachsthum, doch nicht so rasch, als aërob bei dieser Temperatur. Viele Bacillen in Fäden, einige mit Sporen.
2°: Nur beschränktes, ikroskopisch wahrehmbares Gedeihen. ach 2 Monaten noch ut bewegliche Stäbhen und normal entickelte kurze Fäden.	22°: Geringer, weisser Bodensatz, in diesem nach 9 Tagen wenige Bacillen von normalem Aeusseren.	22°: Nach 4 Wochen kein Wachsthum.	22°: Nach 4 Wochen einige wenige Bacillen vorgefunden.	22°: Wachsthum vorhanden, doch geringer als bei 37° in dieser Flüssigkeit; ebenso in Zuckerharn.	22°: Nach 4 Wochen kein Wachsthum.

Nr. Herkunft	Form und Grösse	Beweglichkeit	Färbeverhalten	Sporen	Chemisches Verhalten	Wachsthum Agar (Platten-, Schräg- u. Stichculturen), Glyc.-Agar, 2 Proc. Traubenzuckeragar u. Gelatine
VII. Aus Luft.	Neigung zur Fadenbildung wenig ausgeprägt. Länge = 2·5 bis 3 μ. Breite = 0·4 bis 0·5 μ.	Sehr gut beweglich.	Wie bei I.	Länge = 1·2 μ. Breite = 0·6 bis 0·8 μ. Mittel- oder endständig; bilden sich unter Breiterwerden der Mutterzelle. — Doppelfärbung wie bei I, gelingt. — Resistenz der bei 56° gebildeten Sporen gegen Dampf bei 749·3 ^{mm} (0°) = 100 Minuten; der bei 37° gebildeten bei 749·3 ^{mm} (0°) = 60 bis 70 Minuten.	In Bouillon starke Alkalibildung. In dieser Flüssigkeit und in Peptonlösung schwach Indol. Stärkebouillon wird stärker alkalisch, als Controle und mit Jod tritt sofort wieder schwindende Blaufärbung ein.	**62° u. 56°**: Im auffallender Lichte kleine, runde, of blattartige, weisse Colo nieen. Mikroskopisch be sichtigt erscheinen di Oberflächencolonieen radia gestreift, die tiefliegende sind oft warzig stachelig haben kurze verästelte Aus läufer und sind ziemlich hell, oft rund bis wetzstein förmig. — Bei 62° viel granulirte Bacillen und Krümmel nach 2 Tagen wenige Sporen, bei 56° seh viele Sporen. — Oberfläch der Schräg- und Stichcul turen ist bedeckt mit grau weissem, schleimigem Be lage, im Stichcanale kei Wachsthum, desgleichen i Zuckeragar. — Auf Glyce rinagar Wachsthum gut bei 62° und 56° selbst nach 7 Tagen Sporen nicht sicht bar. — In Gelatine Wachs thum gut, wie das des I. sie wird nicht peptonisirt **37°**: Weisse, runde Colo nieen und auf Schrägculturen nach 10 Tagen schmutzigweisser Belag mit vielen Sporen. — Auf Gly cerinagar Wachsthum gut nach 24 Tagen selbst keine Sporen, sondern Krümmel **22°**: Wachsthum nicht s gut, wie bei 37°. Wenige Colonieen. Bacillen nach 14 Tagen noch in Fäden Keine Sporen.

ei hoher und niederer Temperatur

Kartoffel	Pepton-		Milch	Harn (alk.)	Wachsthum anaërob
	Bouillon	Kochsalzlösung			
62° u. 56°: Bräunlicher Belag, ele Sporen, jedoch Fachsthum nicht imer gleichmässig gut.	62° u. 56°: Wächst gut wie I.	62° u. 56°: Wächst nicht so üppig, wie in Bouillon.	62° u. 56°: Wachsthum nur sehr schwach.	62° u. 56°: Wachsthum gut, desgl. in Zuckerharn.	62° u. 56°: Niemals Wachsthum, doch stets nach Entfernung des Wasserstoffes.
7°: Nach 2 Wochen ehr geringes, makroskopisch nicht erkennbares Wachsthum.	37°: Wächst gut, doch bedeutend langsamer, als bei höherer Temperatur.	37°: Wächst gut, doch bedeutend langsamer, als bei höherer Temperatur.	37°: Selbst nach 6 Wochen kein Wachsthum.	37°: In Harn kein Wachsthum, in Zuckerharn wenige Bacillen.	37°: Wachsthum in mehreren Fällen, in einem auch Sporen vorgefunden.
2°: Wie bei 37° auf diesem Nährboden.	22°: Selbst nach 6 Wochen Vermehrung nicht nachweisbar.			22°: In Harn einige Bacillen.	22°: Niemals Wachsthum.

Nr. Herkunft	Form und Grösse	Beweglichkeit	Färbeverhalten	Sporen	Chemisches Verhalten	Wachsthum auf Agar (Platten-, Schräg- u. Stichculturen), Glyc.-Agar, 2 Proc. Traubenzuckeragar u. Gelatine
VIII. Aus Erde.	Neigung zur Bildung kurzer Fäden. Vor der Sporulation Zerfall in Einzelstäbchen. Länge = 2·5 bis 3 μ. Breite = 0·6 μ.	Beweglich.	Wie bei I; hält die aufgenommene Farbe gegen einfachen, nicht aber gegen Säurealkohol fest (besonders bei Behandlung mit Carbolfuchsin).	Länge = 1·3 μ. Breite = 0·6 μ. Meist mittelständige, unter Breiterwerden der Mutterzelle gebildete Sporen. — Doppelfärbung wie bei I. — Resistenz der bei 56° gebildeten Sporen gegen Dampf bei 745·1 mm (0°) = 120 Minuten, der bei 37° gebildeten bei 748·9 mm (0°) = 60 bis 75 Minuten.	In Milch und Bouillon Alkalibildung, in letzterer schwach Indol. — Stärkebouillon zeigt unveränderte Reaction, auf Jodzusatz entsteht rasch schwindende Blaufärbung.	**62° u. 56°**: Oberflächencolonieen im auffallenden Lichte weiss, im durchfallenden bräunlichgelb mit hellem Rande. Die tief liegenden sind bräunlich oder schwarzgrau, von runder, wetzstein- oder auch eiförmiger Gestalt und zeigen nach allen Richtungen kurze, unregelmässig verästelte Ausläufer, die bei der Ei- und Wetzsteinform aus den Enden hervortreten. — Auf Schrägculturen gelbweisser, schleimiger Belag bisweilen auch runde, weisse Colonieen. — In Stichcanale zuweilen grauweisser Faden mit kurzen Ausläufern, ebenso in Zuckeragar. — Auf Glycerinagar Wachsthum gut. — Im Allgemeinen liebt Bac. VIII etwas saueren Agar. — Sporen werden bei 62° nie gebildet, wohl aber bei 56°. — In Gelatine Wachsthum gut wie bei I, dieselbe wird nicht peptonisirt. **37°**: Wachsthum langsamer, als bei höherer Temperatur. Form der Colonieen wie bei 62° und 56°. — Im Stichcanale geringes Wachsthum, gut an der Stichmündung. — Bacillen erscheinen bei 37° kräftiger entwickelt als bei höherer Temperatur, Breite derselben öfters 0·8 μ. Die Sporenbildung ist ebenso gut wie bei 56°. **22°**: Wachsthum gut, doch nicht so üppig wie bei 37°. Sporen zu keiner Zeit vorgefunden. — In Gelatine Wachsthum gering.

bei hoher und niederer Temperatur

Kartoffel	Pepton- Bouillon	Pepton- Kochsalzlösung	Milch	Harn (alk.)	Wachsthum anaërob
62° u. 56°: Feuchtglänzender, Anfangs grauweisser, später braungelber Belag. Obstartiger Geruch. — Bei 62° keine, bei 56° viele Sporen.	62° u. 56°: Wachsthumsvorgang in nicht zu stark alkalischer Bouillon wie bei I.	62° u. 56°: Wachsthum in alkalischer Peptonkochsalzlösung wegen des zu hohen Alkaligehaltes schlecht.	62° u. 56°: Wachsthum sehr gut, Milch wird zuweilen gelb bis orangeroth.	62° u. 56°: Wachsthum gut.	62° u. 56°: Wächst schlechter, als aërob bei dieser Temperatur. Keine Sporen.
37°: Nach 2 Tagen schon zähschleimiger, gelblichbrauner bis buttergelber Belag. Obstartiger Geruch. Die Bacillen sind auch hier sehr kräftig entwickelt, häufig treten keulenförmige Involutionsformen und solche mit Sporen auf. — Bei dieser Temperatur wie bei 56° viele Sporen.	37°: Wachsthum nach 2 Tagen, Bacillen in Fäden.	37°: Selbst nach 4 Wochen kein Wachsthum.	37°: Wachsthum nach 4 Wochen schwach.	37°: Nach 24 Tagen feiner Bodensatz, in diesem wenige Bacillen.	37°: Wächst gut, nach 8 Tagen keine Sporen.
22°: Gutes, aber langsameres Gedeihen als bei 37°. Keine Sporen, vielfach treten die oben erwähnten Involutionsformen auf.	22°: Selbst nach 6 Wochen nichts von Wachsthum bemerkbar.			22°: Wie bei 37°.	22°: Wächst gut, doch langsamer, als bei 37°.

Wachsthum auf festen und flüssigen Nährsubstanzen.

Die Form der Colonieen auf der Agarplatte ist sehr verschieden. Sehr häufig kommen Colonieen mit kleinen Ausläufern vor und solche, deren Ausläufer die Platte rasch überwuchern vom Typus des Wachsthums der Arten I, II, III, V und VI. Das Agar sagt den verschiedenen Arten nicht gleichmässig zu; so scheint für das Wachsthum des Bacillus IV die chemische Zusammensetzung des Fleischwassers von Bedeutung zu sein, da dieser Bacillus nicht auf allen gleichmässig zubereiteten Agarsorten gedeiht. Auch für Glycerinagar trifft diese Beobachtung zu, da einige Arten auf diesem Nährboden bisweilen keine oder nur sehr geringe Sporenbildung zeigten bei einer für die Sporulation günstigen Temperatur. Die Reaction des Agars ist ebenfalls nicht gleichgültig für das Gedeihen. Im Allgemeinen lieben die Bakterien ein mässig alkalisches, Bacillus VI ein stärker alkalisches, Bacillus VIII dagegen ein etwas saueres Agar. — Bei den als Nährböden verwandten Kartoffeln liegen die Verhältnisse ähnlich bezüglich der Reaction. Die Kartoffel erweist sich nicht für alle Arten als günstiges Nährsubstrat; es gediehen auf ihr gut nur die Arten III, IV, VII und VIII. Obstartiger Geruch findet sich besonders bei Culturen der aus Erde stammenden Bacillen II und VIII. — Das Wachsthum in den flüssigen Nährmedien differirt; oft bilden sich auf diesen innerhalb 24 Stunden bei hoher Temperatur zarte Häutchen, nach weiteren 24 Stunden folgt Trübung der vorher klaren Flüssigkeiten und nach einigen Tagen ein meist weisslich grauer, zuweilen schleimiger Bodensatz.

Anaërobes Wachsthum.

Anaërob ist das Wachsthum bei hoher Temperatur bei den Arten I, II, III, IV, V, VI und VIII nicht so rasch und üppig, wie aërob, aber immerhin gut; Bacillus VII dagegen wächst bei hoher Temperatur nicht anaërob. — Bei niederer Temperatur (37°) wachsen die Arten I, III und IV nicht in der Wasserstoffatmosphäre, Bacillus II wächst schwach, Bacillus VI gut, aber schwächer, als aërob; die Arten V, VII und VIII gedeihen ebenso gut anaërob, wie aërob bei dieser Temperatur. Bei 22° wächst von den untersuchten Bakterien nur das unter VIII angeführte anaërob. — Verschiedene Versuche, obligat anaërobe Thermobakterien zu züchten, schlugen fehl. Auch Oprescu[1] scheint in dieser Richtung keine Erfolge gehabt zu haben. Da das Gedeihen der anaëroben Bakterien in Thierleichen bei 37° erheblich gefördert wird und die letzteren durch Gasentwickelung sehr oft aufgetrieben werden, habe ich durch Er-

[1] *Hygienische Rundschau.* 1898. Bd. VIII. S. 107.

drosselung getödtete Mäuse und eine durch Kohlensäure erstickte Ratte in den Thermostaten bei 62° gelegt, um die Entwickelung etwaiger Anaëroben vom Darme aus zu begünstigen. Die Cadaver rochen nach 3 bis 4 Stunden scharf buttersäureartig und waren in der Bauchgegend bisweilen etwas aufgetrieben, meistens aber geplatzt; die Musculatur war schon nach 2 bis 3 Stunden so weich, als ob sie gekocht worden wäre. Nach vierstündiger Anwesenheit der Leichen im Thermostaten fand ich in Milz, Niere, Leber, Lunge und Herz keine Bakterien, jedoch nach 15 bis 20stündigem Aufenthalte der Thierleichen bei 62°. Die aus den Organen isolirten Bakterien waren Stäbchen, welche die Länge und Breite des Typhusbacillus nicht überschritten und die in der Wasserstoffatmosphäre weniger gut als aërob gediehen.

Temperaturoptimum.

Das Temperaturoptimum liegt für die Arten IV, VII und VIII zwischen 50 und 60°, für Bacillus V bei 56 bis 62°, für die Arten I, II, III und VI zwischen 56 und 70°. Bacillus V wächst bei 66° nicht, IV, VII und VIII spärlich; die letzteren drei Arten vermögen bei dieser Temperatur nicht Sporen zu bilden. Die Arten I, II, III und VI bilden bei 66° Sporen, III und VI viel rascher, als bei 62°; bei 70° ist die Bildung der Sporen bei I, II und III beschränkt, Bacillus VI wächst nicht mehr. — Da die von mir bearbeiteten Thermobakterien vor der Sporenbildung das üppigste und rascheste Wachsthum zeigten, glaube ich für die Feststellung des Wachsthumsoptimums besonders die Verhältnisse der Sporulation in Betracht ziehen zu müssen.

Temperaturmaximum.

Die obere Wachsthumsgrenze liegt für Bacillus V zwischen 63 und 66°, für die Arten III, IV, VI, VII und VIII zwischen 66 und 70°, für Bacillus I zwischen 70 und 74°, für Bacillus II bei 75°. Alle Arten vermögen, an der oberen Temperaturgrenze ihrer Wachsthumsfähigkeit angelangt, nicht mehr Sporen zu erzeugen. — Ein anderer, nicht näher beschriebener Bacillus aus Luft wächst bei 75° und bildet bei dieser hohen Temperatur Sporen. Für zwei weitere nicht eingehend bearbeitete Arten von Kartoffelbacillen, die bei 37° wachsen und sehr resistente Sporen (10 Stunden strömender Dampf) bilden, liegt die obere Wachsthumsgrenze bei 56 bis 60°, bei 56° bilden sie keine Sporen.

Wachsthum bei 37° und 22°.

Die untere Wachsthumsgrenze ist für das Verhalten der Thermobakterien in der Natur von hervorragendem Interesse. — Bei 37° hatten

die Arten IV, V, VI, VII und VIII nach einigen Tagen Colonieen gebildet, welche sporentragende Stäbchen enthielten, während die anderen, I, II und III, bei dieser Temperatur nur beschränktes Wachsthum zeigten und nichts von Sporenbildung erkennen liessen. — Auf Kartoffeln und Agar übertragen und mehrere Wochen bei 22° gehalten, zeigten die Arten I, II, III, IV, V und VI, mit unbewaffnetem Auge betrachtet, nichts von Wachsthum. Die mikroskopische Untersuchung im hängenden Tropfen ergab indessen neben vielen granulirten Bacillen und vereinzelten freien Sporen die Anwesenheit normal aussehender, zum Theil beweglicher Bacillen; diese hingen mehrfach in kurzen Fäden an einander. Derartige Beobachtungen machte ich selten nach den ersten acht Tagen, wohl aber, wenn ich die Culturen mehrere Wochen (4 bis 8) bei 22° liegen liess; ich sah die Erscheinung zuerst auf Kartoffeln, später auch auf anderen Nährböden, welche den betreffenden Arten zusagen, so mit einigen Ausnahmen gut in Harn oder Zuckerharn; die Flüssigkeiten erfuhren zum Theil deutliche Trübungen. Auch auf Agarschrägculturen bei 22° sah ich winzige, punktförmige Unebenheiten und bei mikroskopischer Untersuchung normal entwickelte neben granulirten Bacillen. — Nach diesen Beobachtungen möchte ich die bei höheren Temperaturgraden wachsenden Bakterien (Thermobakterien) in zwei Gruppen theilen:

Die erste Gruppe würde die thermophilen Bakterien umfassen. Hierher gehören solche, welche zu gutem Wachsthum einer Temperatur über 40° bedürfen, unter 40° aber nur mehr oder weniger kümmerlich gedeihen (Arten I, II und III). Die zweite Gruppe, welche ich nach dem Vorgange von Schillinger thermotolerante Bakterien nennen möchte, umfasst diejenigen Bakterien, welche auch bei Temperaturgraden unter 40° üppig zu wachsen und Sporen zu bilden vermögen und die daneben auch bei höheren, über 40° gelegenen Wärmegraden gut gedeihen (Arten IV, V, VI, VII und VIII).

Da sämmtliche von mir untersuchten Bakterien bei 37 und 22° in Reinculturen aërob gut wachsen oder wenigstens — wenn auch nur kümmerlich — vegetiren, ist anzunehmen, dass diese Thermobakterien im Sommer auf zusagenden Nährsubstraten in der freien Natur zu gedeihen vermögen, wenn auch oft in nur sehr beschränktem Maasse. Doch gilt das Gesagte nicht allgemein für alle Arten, denn das Temperaturminimum ist keine Constante, sondern ist bedingt durch andere Verhältnisse (Nährboden, Anwesenheit anderer Bakterien oder deren Stoffwechselproducte u. A.). So hat Rabinowitsch gezeigt, dass die von ihr geprüften Thermobakterien dann bei viel niedrigerer Temperatur wachsen, wenn dieselben unter anaëroben Bedingungen cultivirt werden. Das gleiche Verhalten bezüglich der Erniedrigung des Temperaturminimums bei Sauerstoffent-

ziehung zeigt die von mir im III. Theile dieser Arbeit geschilderte Streptothrix, welche anaërob bei 37° rascher gedeiht, als bei 55°.

Form und Beweglichkeit.

Die beschriebenen acht Arten sind Bacillen von verschiedener Dicke und Länge (siehe Tabelle). Auffallend ist die Thatsache, dass die thermotoleranten Bakterien V und VIII bei 37° breiter erscheinen, als die bei 62° und 56° gebildeten Individuen. Bei Bacillus VIII treten auf Kartoffeln bei 37° an kleine Hefen erinnernde Formen auf, die oft in ihrem Inneren die für VIII charakteristischen Sporen enthalten; bei 56° habe ich die Bildung derartig gestalteter Bakterien nur einmal beobachtet. — Die Arten I, II, III, VI und VIII zeichnen sich aus durch Bildung mehr oder weniger langer, oft gewundener Fäden. Die meisten Arten sind schwach beweglich, V und VII sah ich bisweilen sehr gut beweglich; die Zusammensetzung des zur Agarbereitung dienenden Fleischwassers scheint auf die Beweglichkeit Einfluss zu haben.

Form und Bildung der Sporen.

Alle acht Bacillenspecies bilden verschieden grosse Sporen von langgestreckter, ovaler oder runder Form. Sie werden theils mit, theils ohne Verbreiterung der Mutterzelle gebildet und sind end- oder mittelständig; bei einigen Arten (V, VI, VII und VIII) treten die Sporen mittel- und endständig auf. Nur bei den Arten II, VI und VII habe ich anaërob Sporenbildung gefunden; bei diesen Bakterien bilden sich die Sporen jedoch aërob stets reichlicher, als anaërob.

Verhalten der Bacillen bei dem Absterben.

Die Formänderung bei dem Absterben der Bacillen habe ich genauer bei Bacillus VIII beobachtet. Dieses thermotolerante Bacterium gedeiht bei 62° gut, bildet aber bei dieser Temperatur keine Sporen. 24 Stunden bei 62° gehalten, zeigen die Colonieen auf der Agarplatte nur normal entwickelte Bacillen und Fäden, nach weiteren 6 Stunden sehen viele der Stäbchen granulirt aus und die Colonieen enthalten Krümmel, die in der 40. Stunde bedeutend vorherrschen. Die in der zuletzt angegebenen Zeit noch vorhandenen wenigen Bacillen stellen kräftiger ausgebildete Stäbchen dar, als die Mehrzahl der früher vorhandenen und sind meist zu kurzen Fäden vereinigt.

Chemische Veränderungen der Nährsubstrate.

Die chemischen Veränderungen, welche die Bacillen in den Nährböden bewirken, sind verschieden. Vielfach wird von den Mikroorganismen Alkali, in einigen Fällen Säure gebildet; Indol- und Nitritbildung

sind in Bouillon und auch in Peptonkochsalzlösung oft als Stoffwechselproducte dieser Bakterien nachzuweisen. Gährungserscheinungen habe ich bei den, in den Tabellen aufgeführten Thermobakterien niemals wahrgenommen. — Setzte ich zu alkalischer Peptonbouillon 1 Proc. Stärke, so war dieselbe als solche nach drei bis vier Wochen bei den Arten II, III und IV nicht mehr nachzuweisen. Auf Zusatz einer $^1/_3$ Procent Jod und $^2/_3$ Procent Jodkalium enthaltenden Lösung trat nach 3 bis 4 Wochen bei diesen Arten Roth- oder Rothvioletfärbung auf. Traubenzucker war weder mit der Trommer'schen und Nylander'schen, noch mit der Phenylhydrazinprobe nachweisbar. — Die Arten V, VI, VII und VIII zeigten auf Zusatz der beschriebenen Jod-Jodkaliumlösung meist rasch verschwindende Blaufärbung, während die Controle diese beibehielt; Bacillus I verhielt sich auf Jodzusatz wie die Controle. Die Gelatine wird von den Arten IV, V und VI peptonisirt, Milch gerinnt durch die Arten III und IV, Glycerinagar wird durch Bacillus V verändert und riecht sauer.

Verhalten gegen Farbstoffe.

Im jugendlichen Stadium färben sich die acht Arten gut mit Carbolfuchsin, Methylenblau und Methylviolet, auch nach der Gram'schen Methode; im älteren Zustande ist die Färbung vielfach lückenhaft. Während die Bacillen Carbol- und Anilinwasserfuchsin Alkohol gegenüber festhalten, geben sie die Farbe an 3procentigen Salzsäurealkohol nach 1minutiger Einwirkung desselben in der Regel ab; Ausnahmen machen Bacillus V und VI, welche auch diesem gegenüber die Farbe festhalten. Am ausgeprägtesten zeigt diese Eigenschaft Bacillus V; wir haben hier also dem Tuberkelbacillus ähnliche Arten zu verzeichnen, welche wie dieser die einmal aufgenommene Farbe schwer an Salzsäurealkohol abgeben.

Bei den Arten I, II und III erhielt ich durch Doppelfärbung sporenhaltigen Materiales hübsche Bilder. Die Sporen ein und desselben Bacteriums, bei höherer Temperatur (62 oder 56°) und bei niederer (37°) gebildet, zeigten keine Unterschiede im Aufnehmen der Farbe. Die Sporen aller Arten waren theils nach wenigen Minuten (3 bis 5) mit dampfendem Anilinwasserfuchsin durchgefärbt, theilweise bedurften sie zur Färbung viel längerer Zeit. — Die seitherige Annahme, dass die Sporen der Thermobakterien allgemein leicht färbbar sind, ist nicht zutreffend, auch hier existiren mannigfache Unterschiede.

Verhalten der Sporen im trockenen Zustande.

Die Sporen der Arten I, II, V, VI, VII und VIII hatten, an Deckgläsern angetrocknet und in Petri'schen Schalen im Dunkeln bei Zimmer-

temperatur aufbewahrt, nach 6 Monaten noch ihre Keimfähigkeit erhalten, während die Sporen von III und IV unter gleichen Bedingungen dieselbe einmal schon nach 4 Wochen eingebüsst hatten; bei Wiederholung des Versuches waren die Sporen dieser Arten noch nach 8 Wochen keimfähig. Die Gründe für dieses wechselnde Verhalten konnte ich nicht feststellen. Bei diesen Versuchen war es gleichgültig, ob die Sporen bei 62° und 56° oder bei 37° gewonnen waren.

Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen strömenden Dampf.

Zur Prüfung der Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen strömenden Dampf verfuhr ich in folgender Weise. Hatten die Bakterien auf Agarschrägculturen reichlich Sporen gebildet und waren besonders auch freie vorhanden, so wurde mit der Platinöse ohne Verletzung des Nährbodens Material von den Culturen entnommen und in sterilem Wasser möglichst gleichmässige Suspensionen hergestellt. Mit diesen wurden sterile Deckgläschen bestrichen und die so inficirten Gläschen in Petri'schen Schalen im Dunkeln bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Einige Tage nach dem Antrocknen, frühestens am zweiten und spätestens am zehnten Tage, wurden die inficirten Deckgläschen in dem für Desinfectionsversuche mit Ozon von Ohlmüller[1] zusammengestellten Apparate der Wirkung des strömenden Wasserdampfes ausgesetzt. Der Barometerstand wurde jedesmal notirt; die Dampftemperatur bei diesem Verfahren betrug stets mehr als 99°. Nach verschieden langer Zeit wurden die Deckgläschen mit steriler Pincette aus dem Apparate genommen und mit Controlgläschen auf der Entwickelung günstige Nährböden übertragen. Die Prüfung der Sporen jeder einzelnen Art wurde öfters wiederholt und damit erst begonnen, wenn der Apparat mehrere Minuten lang erhitzt war und das Thermometer desselben constante Temperatur zeigte. — Zu diesen Versuchen wurden zunächst die bei höherer Temperatur (62 und 56°), später die bei niederer (37°) gebildeten Sporen herangezogen. Zeigte sich auf den Agarplatten während 24 Stunden kein Wachsthum in der Umgebung der Deckgläschen, so wurden letztere mit steriler Pincette etwas verschoben, um den Luftsauerstoff zutreten zu lassen und die Platten, um Eintrocknen zu vermeiden, in feuchter Kammer im Thermostaten belassen. Nach 24 bis 48 Stunden waren die nicht abgetödteten Sporen ausgekeimt und das Wachsthum war am Rande der Deckgläschen makroskopisch gut erkennbar. Diejenigen Platten, welche Wachsthum nicht erkennen liessen, wurden noch 6 bis 8 Tage in feuchter Kammer im Thermostaten gehalten; auch nach dieser Zeit war von Colonieenbildung nichts zu sehen.

[1] *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1893. Bd. VII. S. 328.

Die Widerstandsfähigkeit der einzelnen Sporen zeigt nachstehende Tabelle:

Die bei 62° gebildeten Sporen des Bac. I vertrugen den Dampf 3 Stunden bis 3 Stunden 10 Minuten.

Die bei 62° gebildeten Sporen des Bac. II vertrugen den Dampf 2 Stunden bis 2 Stunden 50 Minuten.

Die bei 56° gebildeten Sporen des Bac. VIII vertrugen den Dampf 2 Stunden.

„ „ 56° „ „ „ „ VII „ „ „ 100 Min.
„ „ 62° „ „ „ „ III „ „ „ 25 „
„ „ 56° „ „ „ „ IV „ „ „ 13—15 Min.
„ „ 62° „ „ „ „ VI „ „ „ 12—13 „
„ „ 62° „ „ „ „ V „ „ „ 2—3½ „

Das zu den Versuchen nöthige Sporenmaterial konnte ich bei 37° nur von den Arten V, VI, VII und VIII gewinnen; die Widerstandsfähigkeit giebt die folgende Tabelle an:

Die bei 37° gebildeten Sporen des Bac. VIII vertr. den Dampf 60—75 Min.
„ „ 37° „ „ „ „ VII „ „ „ 60—70 „
„ „ 37° „ „ „ „ VI „ „ „ 100—120 Sec.
„ „ 37° „ „ „ „ V „ „ „ 50—60 „

Aus diesen Versuchen ergiebt sich, dass die Widerstandsfähigkeit der Sporen, sowohl für die einzelnen Thermobakterienarten, als auch je nach der Temperatur, bei welcher die Sporen gebildet sind, ausserordentlich verschieden ist. Ob der Nährboden in dieser Richtung einen Einfluss hat, lasse ich zur Zeit dahingestellt. — Während die Sporen einiger Arten 2 bis 3 Stunden im Dampfe aushalten, vermögen dieselben von anderen Arten nur Minuten oder Secunden der Wirkung des Dampfes zu widerstehen; selbst die bei 66 bis 70° noch gut wachsenden und sporenbildenden Arten I, II und III zeigen diese Unterschiede unter sich. Die bei 37° gebildeten Sporen der thermotoleranten Bakterien waren stets weniger resistent, als die bei hoher Temperatur entstandenen. — Die Schwankungen des Barometerstandes liessen einen Einfluss auf die Resistenzbestimmungen nicht erkennen.

Verhalten der bei hoher Temperatur gebildeten sporenfreien Bacillen bei Zimmertemperatur.

Die Sporenbildung erfolgte bei hoher Temperatur bei manchen Arten besonders rasch. Eingehendere Beobachtungen über dieselbe habe ich bei Bacillus I angestellt. Bei Beginn meiner Versuche mit Thermobakterien gelang es mir bisweilen nicht, diesen Bacillus weiter zu züchten.

Die Fortzüchtung misslang, wenn ich dem auf 62° eingestellten Thermostaten Culturen entnahm, diese mehrere Stunden bei Zimmertemperatur stehen liess und von ihnen dann auf andere Nährböden übertrug, die wieder bei 62° gehalten wurden. — Ich kam nun in folgender Weise zu einem Resultate. Um $8^1/_2$ Uhr früh wurde von einer sporenhaltigen, bei 62° gestandenen Schrägcultur eine Oese des gelbbraunen, schmierigen Belages entnommen und mit destillirtem Wasser zu möglichst gleichmässiger Suspension verrührt. Um $9^1/_2$ Uhr früh kamen 12 Agarplatten, jede beimpft mit drei Oesen dieser Suspension, in den Thermostaten von 62°. Um $1^1/_2$ Uhr Mittags war mit blossem Auge im durchfallenden Lichte kein Wachsthum zu erkennen, wohl aber sah ich unter dem Mikroskope feine, verästelte Colonieen. Um $2^1/_2$ Uhr Mittags waren diese im durchfallenden Lichte makroskopisch schon gut erkennbar und trübten die Platten wolkig; mikroskopisch konnte man beobachten, wie die Ausläufer einer Colonie zwischen die der anderen hineinwuchsen. Um diese Zeit — also nach fünfstündigem Verweilen bei 62° — wurde die erste der zwölf Platten (*A*) aus dem Thermostaten herausgenommen, mikroskopisch untersucht und von ihr eine Schrägagarcultur (*a*) angelegt und diese sofort bei 62° gebracht. Die dem Thermostaten entnommene Platte *A* wurde bei Zimmertemperatur dunkel zur Seite gestellt und von ihr (*b*) nach vier, (*c*) nach acht und (*d*) nach zwölf Stunden auf Schrägagar übertragen. — Um $3^1/_2$ Uhr Mittags (nach sechsstündigem Aufenthalte bei 62°) kam die zweite Platte (*B*) aus dem Thermostaten; es wurde wie bei der ersten Platte sofort eine Schrägcultur (*a*) angelegt. Platte *B* wurde dann ebenfalls zur Seite gestellt und von ihr, wie bei Platte *A*, Uebertragungen nach vier (*b*), bezw. acht (*c*), bezw. zwölf (*d*) Stunden auf Schrägagar vollzogen. Nacht achtstündiger Anwesenheit bei 62° wurde Platte *C*, nach neun Stunden Platte *D*, nach zehn Stunden Platte *E*, nach zwölf Stunden Platte *F* und nach vierzehn Stunden Platte *G* dem Thermostaten entnommen und mit diesen Platten verfahren, wie mit den Platten *A* und *B*.

Das Resultat dieser Versuche war folgendes: Die Schrägagarröhrchen *a*, die, sogleich nach Entnahme der Platten aus dem Thermostaten beimpft, wieder bei 62° gelegt wurden, zeigten stets üppiges Wachsthum des Bacillus. Die Schrägculturen *b*, vier Stunden nach Entnahme der Platten aus dem Thermostaten angelegt, hatten ebenfalls stets gutes Wachsthum. Die Schrägculturen *c*, abgeimpft nach achtstündigem Stehen der Platten bei Zimmertemperatur, hatten bei Entnahme von den Platten *A* und *B* kein, von den Platten *C*, *D*, *E*, *F* und *G* stets Wachsthum. Die Schrägculturen *d*, nach zwölfstündigem Stehen der Platten bei 19 bis 20° angelegt, zeigten mit Ausnahme der von Platte *A* herrührenden Wachs-

thum. Während also die Schrägcultur *B c* kein Wachsthum hatte, zeigte auffallender Weise die Schrägcultur *B d* Wachsthum. (Da bei der mikroskopischen Untersuchung der Platte *B* ein sporenhaltiger Bacillus gefunden war, so ist die Möglichkeit offen zu lassen, dass bei Schrägcultur *B d* sporenhaltiges Material mit übertragen und durch dieses Wachsthum veranlasst wurde.)

Bei der Herausnahme der Platten *A* bis *G* aus den auf 62° eingestellten Thermostaten war in vorstehendem Versuche regelmässig auch etwas Culturmaterial am Deckgläschen angetrocknet und ausserdem mikroskopisch geprüft. — Die Deckgläschen wurden, nachdem sie dunkel bei Zimmertemperatur in sterilen Schalen 11 Wochen aufbewahrt waren, auf Agarplatten gelegt; die von Platte *A* und *B* herrührenden erzeugten kein Wachsthum, wohl aber die von den Platten *C*, *D*, *E*, *F* und *G*. — Die mikroskopische Untersuchung im hängenden Tropfen ergab bei Platte *A* Anwesenheit langer Fäden, bei Platte *B* das gleiche Resultat, doch wurde auch ein Bacillus mit Spore gesehen. Bei Platte *C* fanden sich keine Fäden mehr oder höchstens noch zwei Bacillen an einander hängend, die meisten hatten Sporen gebildet. Die Platten *D*, *E*, *F* und *G* enthielten stets Einzelbacillen mit Sporen. — Makroskopisch zeigten die Platten *C* und *D* beginnende Ueberwucherung durch die für den Bacillus charakteristischen Ausläufercolonieen, Platte *E* war schon zum Theil, Platte *F* mehr und Platte *G* vollständig von den Ausläufern überwachsen.

Aus diesen und anderen in gleicher Weise angestellten Versuchen ist zu schliessen, dass der Bacillus I ohne Sporen nur dann weiterwächst, wenn er sofort oder nach vierstündigem Verweilen bei Zimmertemperatur übertragen wird, und dass er bei 19 bis 20° zwischen der vierten und achten Stunde abstirbt. Der Sporulation geht die Fadenbildung voraus, die Fäden zerfallen in Einzelstäbchen und bilden bei den hier in Betracht kommenden dicht besäeten Platten zwischen der sechsten und siebenten Stunde Sporen, durch welche die Fortpflanzung erfolgt. — Mit Bacillus II angestellte Versuche ergeben im Wesentlichen das gleiche Resultat; bei diesem Bacterium erfolgte die Sporulation bei 62° schon in der vierten Stunde. Aufenthalt in feuchter Kammer beschleunigte die Sporenbildung bei I und II nicht. Auch bei den anderen Arten erfolgte die Sporulation bei hoher Temperatur stets rasch, wenn auch nicht immer in so kurzer Zeit, wie bei den Bacillen I und II; auf zusagendem Nährsubstrate fand die Sporenbildung jedoch stets spätestens nach 24 bis 48 Stunden statt. Bei 37° bedurften die thermotoleranten Bakterien stets längerer Zeit zur Sporulation als bei höheren Temperaturgraden. Uebrigens darf dabei nicht vernachlässigt werden, dass bei höherer Temperatur durch die er-

höhte Vermehrungsgeschwindigkeit der Bakterien auch die Ausnutzung und Veränderung des Nährbodens, welche Faktoren ebenfalls von Einfluss auf die Bildung der Dauerformen sind, rascher fortschreiten als bei niederen Temperaturgraden. — Nicht alle Bakterien, die bei hoher Temperatur sporenfrei gewachsen sind, sterben bei Zimmertemperatur ab; so wächst der thermotolerante Bacillus VIII, der bei 62° niemals Sporenbildung zeigt, von dieser Temperatur auf 22° übertragen, gut weiter. — Die rasche Sporulation der Thermobakterien in hoher Temperatur ist für die Erhaltung der Art in der Natur von Bedeutung; man denke an die mit Entwickelung bedeutender Wärmemengen verknüpften Zersetzungsvorgänge.

Züchtungsversuche in der Kohlensäureatmosphäre.

Da Schlösing gefunden hat, dass Düngerhaufen bei hoher Temperatur bedeutende Mengen von Kohlendioxyd entwickeln, so ist wohl anzunehmen, dass dasselbe auf die bei der Gährung mitwirkenden oder bei diesem Vorgange anwesenden Bakterien nicht tödtend wirkt. — Nach den Versuchen Fränkel's[1] ist die Kohlendioxydwirkung auf die Bakterien eine sehr verschiedene. Einige Arten entwickeln sich in CO_2 gut, andere zeigen Wachsthumshemmung, die bei einzelnen soweit geht, dass sie erst nach Entfernung dieses Gases gedeihen, wieder andere werden durch die Kohlensäure getödtet. — Ich habe nun die von mir isolirten Arten von Thermobakterien auf ihr Verhalten in der Kohlensäureatmosphäre untersucht. Zu den Versuchen erachtete ich die Anwendung des Botkin'schen Apparates für genügend. Als Abschlussflüssigkeit verwendete ich bei den ersten Versuchen flüssiges Paraffin; es stellte sich jedoch heraus, dass dasselbe nicht zu gebrauchen war, da der Atmosphärendruck nach kurzer Zeit den Druck des CO_2 in dem Apparate überwog und in Folge dessen sehr leicht Luft in das Innere der Glasglocke eindrang. Das Kohlendioxyd diffundirte durch das Paraffin, auch ein mit CO_2 gefülltes Reagensrohr zeigte in Paraffin getaucht bei 56° in einigen Stunden die gleiche Erscheinung. Aus diesem Grunde verwendete ich mit Wasser verdünntes Glycerin als Abschlussflüssigkeit, welche das CO_2 in geringem Maasse absorbirte. Da Glycerin dem Agar infolge seiner hygroskopischen Eigenschaft bei 62° und 56° viel Wasser entzieht, stellte ich im Inneren des Botkin'schen Apparates eine Porzellanschale mit Wasser auf. Die Darstellung des CO_2 erfolgte im Kipp'schen Apparate aus gekochtem Marmor und verdünnter Salzsäure (1 + 4), das Gas wurde in einer Waschflasche mit destillirtem Wasser gewaschen, durch eine Röhre mit ebenfalls ge-

[1] *Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten.* 1889. Bd. V. S. 354.

kochten Marmorstückchen und vor Eintritt in den Botkin'schen Apparat nochmals durch destillirtes Wasser geleitet. Die Einleitung erfolgte stets $1^1/_2$ bis 2 Stunden lang, das austretende Gas wurde zur Prüfung über Natronlauge aufgefangen in einem mit dieser Flüssigkeit gefüllten Reagensrohre. Selbst noch nach dreistündiger Einleitung zeigte sich in dem Reagensrohre nach Absorption der Kohlensäure ein linsengrosser Raum eines durch Natronlauge nicht aufnehmbaren Gases, das auch nach weiterer Durchleitung von CO_2 durch den Apparat nicht schwand. Um den Sauerstoff vollständig zu entfernen, stellte ich in dem Apparate noch eine Schale mit alkalischer Pyrogallollösung auf. — Die stets bei 62° sporenbildenden Thermobakterien wurden bei dieser, die bei 56° sporenbildenden bei letzterer Temperatur der Wirkung der Kohlensäure ausgesetzt. So lange neben CO_2 noch wenig Luft im Apparate war, war die Colonieenbildung eine gute und es wurden bei den Arten I, II, III, V und VI Sporen vorgefunden. Bei Anwendung von Pyrogallol war das Wachsthum stets geschädigt, Sporen wurden nicht mehr gefunden. Bei letzterem Verfahren wuchsen bei 62°, bezw. 56° die thermophilen Bakterien I, II, III und der thermotolerante Bacillus VIII (Bacterium III am besten), doch sämmtliche Arten niemals so gut, wie aërob bei dieser Temperatur; die übrigen vier thermotoleranten Arten und die später zu beschreibende thermotolerante Streptothrix wuchsen nicht. Entnahm ich die Platten der Kohlensäureatmosphäre, so erfolgte an der Luft bei 62° und 56° meist üppiges Wachsthum, wenn das Agar nicht zu stark eingetrocknet war. (Letztere Erscheinung trat öfters auf trotz des im Apparate befindlichen Behälters mit Wasser.) Empfindlicher gegen die Einwirkung der Kohlensäure sind die thermotoleranten Mikroorganismen; die vier Bacillenarten IV, V, VI und VII wuchsen jedoch nach dreitägiger Anwesenheit in Kohlendioxyd an der Luft noch weiter, die Streptothrix nicht. — Auch bei 37° habe ich die Versuche wiederholt, erhielt aber nur bei Bacillus VIII Wachsthum; die Colonieen dieses Bacteriums zeigten wie bei 62 und 56° deutliche Schädigung in der Ausbildung. Länger als sechs Tage konnte ich die Versuche bei 37° nicht fortsetzen, da das Kohlendioxyd durch das Glycerin in dieser verhältnissmässig langen Zeit stark absorbirt und dem Agar durch das Glycerin viel Wasser entzogen wurde. Nach Entnahme dieser Platten aus der Kohlensäureatmosphäre erzielte ich in feuchter Kammer bei 56° kein Wachsthum; die sehr starke Eintrocknung des Nährbodens war anscheinend ein Hinderniss für dasselbe.

Nach diesen Versuchen wirkt das Kohlendioxyd auf die thermotolerante Streptothrix tödtend, auf die acht Bacillenarten bei höherer Temperatur aber nur entwickelungshemmend. An und für sich ist dieses Resultat nicht eindeutig, da das Kohlendioxyd einerseits als Sauerstoff verdrängendes Medium

wirkt, andererseits aber auch die Säureeigenschaften desselben durch Veränderung des Nährbodens zur Wirkung kommen könnten. Dass dies letztere wenigstens nicht von erheblichem Einflusse ist, ging aus Versuchen hervor, bei denen die Kohlensäure nur mit einem geringen Procentsatze Luft gemengt war. Es waren dann fünf Arten, darunter — was von ganz besonderem Interesse ist — die thermophilen Bakterien, im Stande, üppig zu wachsen und Sporen zu bilden. Für diese und wohl auch für eine grosse Zahl anderer Thermobakterien ist es denkbar, dass sie bei den mit Kohlensäureentwickelung und hoher Temperatur verbundenen Gährungsvorgängen in der Natur recht gut zu wachsen und Sporen zu erzeugen vermögen, da bei diesen Gährungsvorgängen neben CO_2 auch O zugegen ist.

Verhalten der Thermobakterien im Sonnenlichte und in der Sonnenwärme.

Globig fand besonders viele Keime von Thermobakterien in den oberen Bodenschichten und zwar mehr in solchen der Tropen, als in denen der nördlichen Gegenden der Erde. Globig hat versucht, die von ihm isolirten Arten in der Sonne zu züchten. Er benutzte zu diesen Experimenten Kartoffeln, die aber eintrockneten und dadurch unbrauchbar wurden. Diese Versuche habe ich einer Nachprüfung unterzogen; als Nährmedien verwendete ich neben Kartoffeln Agar und für die Streptothrix ausserdem noch Bouillon. Die Kartoffeln benutzte ich nur für solche Arten, welche dieselben als Nährboden besonders liebten. Je vier Agarschrägculturen und ebensoviel inficirte Globig'sche Kartoffeln wurden der Bestrahlung durch die Sonne ausgesetzt und dieselbe Anzahl unter beiderseits schwarzem Papiere; zu gleicher Zeit wurden Controlen in den Thermostaten von 56° gebracht. Das Material, mit welchem die Uebertragungen vollzogen wurden, war stets stark sporenhaltig. Die tagsüber der Besonnung ausgesetzten Culturen kamen Nachts und an nicht gleichmässig sonnigen oder ganz trüben Tagen in den Keller, der während der Dauer des Versuches als Durchschnittstemperatur 17 bis 18,5° hatte. Zur Messung der Temperatur in der Sonne wurde in Ermangelung eines Vacuumthermometers ein an der Kugel geschwärztes neben die Culturen gelegt und zur Messung der unter dem schwarzen Papier herrschenden Wärme ein gewöhnliches Thermometer. Die Temperatur wurde vorwiegend stündlich abgelesen (siehe Tabelle über Dauer der Besonnung und Temperaturbeobachtungen auf S. 38 und 39); begonnen wurde mit den Versuchen am 19. August 1898, nur die an den Deckgläschen angetrockneten Sporen waren einige Zeit vorher auf Widerstandsfähigkeit gegen Besonnung geprüft worden.

19. August 1898 Culturen 3 Uhr Mittags ausgesetzt.	$3^1/_4$	$3^1/_2$	$4^1/_4$	$5^1/_4$	$6^1/_4$	$6^1/_2$				Uhr	Dauer der Besonnung
	43·5°	46·3°	43°	40°	33°	33°				Temperaturgrade in der Sonne	$3^1/_2$ Std.
	40°	41°	37°	37°	35°	31°				„ unter schwarz. Papier	
20. August 1898 Morgens bedeckter Himmel. — Culturen $11^1/_4$ Uhr ausgesetzt.	$11^1/_2$	$12^1/_2$	$2^3/_4$	$3^3/_4$	$4^3/_4$	$5^3/_4$	$6^1/_4$			Uhr	Dauer der Besonnung
	46·5°	49°	48·5°	43·5°	42·5°	34°	35·5°			Temperaturgrade in der Sonne	7 Std.
	41°	44°	42°	40°	39·5°	34°	35·5°			„ unter schwarz. Papier	
21. August 1898 Morgens bedeckter Himmel. — Culturen $10^1/_2$ Uhr ausgesetzt.	11	12	1	2	3	4	5	6	$6^1/_2$	Uhr	Dauer der Besonnung
	48°	59°	54°	51·5°	53°	48·5°	44°	34°	34°	Temperaturgrade in der Sonne	8 Std.
	38°	46°	44°	46°	44°	46°	43·5°	36°	36°	„ unter schwarz. Papier	
22. August 1898 Morgens bedeckter Himmel. — Culturen $10^1/_2$ Uhr ausgesetzt.	11	12	1	2	3	4	5	6	$6^1/_2$	Uhr	Dauer der Besonnung
	44·5°	45·5°	48°	46°	44·5°	48·5°	44·5°	34·5°	31·5°	Temperaturgrade in der Sonne	8 Std.
	38°	45°	49°	48°	44°	44·5°	43°	35·5°	33°	„ unter schwarz. Papier	
23. August 1898 Culturen $9^1/_2$ Uhr ausgesetzt.	10	11	12	1	2	Für die Versuche ungeeignetes Wetter bis zum 26. Aug.				Uhr	Dauer der Besonnung
	35°	44·5°	54°	55°	32°					Temperaturgrade in der Sonne	$4^1/_2$ Std.
	30·5°	38°	46°	57°	39°					„ unter schwarz. Papier	
26. August 1898 Morgens trübes Wetter. Culturen $2^3/_4$ Uhr ausgesetzt.	3	$3^3/_4$								Uhr	Dauer der Besonnung
	41°	38°								Temperaturgrade in der Sonne	1 Std.
	32°	33°								„ unter schwarz. Papier	
			Für die Versuche ungeeignetes Wetter bis zum 2. September.								
27. August 1898 Culturen 10 Uhr ausgesetzt.	$10^1/_2$	$11^1/_2$	$12^1/_2$							Uhr	Dauer der Besonnung
	40°	46°	43°							Temperaturgrade in der Sonne	$2^1/_2$ Std.
	36°	42°	41°							„ unter schwarz. Papier	

2. September 1898	$10^1/_2$	$11^1/_2$	$12^1/_2$	$1^1/_2$	$2^1/_2$	$3^1/_2$	$4^1/_2$	$5^1/_2$		Uhr	Dauer der Besonnung
Culturen 10 Uhr ausgesetzt.	31·5°	37°	37°	30°	34°	35°	33·5°	25°		Temperaturgrade in der Sonne	$7^1/_2$ Std.
	28°	34°	37°	29°	30°	31°	32°	26°		„ unter schwarz. Papier	

Am 3. und 4. September 1898 herrschte für die Versuche ungeeignetes Wetter.

5. September 1898	$9^1/_2$	$10^1/_2$	$11^1/_2$	$12^1/_2$	$1^1/_2$	3	4	5	$5^1/_2$	Uhr	Dauer der Besonnung
Culturen $9^1/_4$ Uhr ausgesetzt.	38°	40°	39°	Trübes		47°	38°	37°	30°	Temperaturgrade in der Sonne	$4^3/_4$ Std.
	30°	30°	33°	Wetter		40°	43°	41°	32°	„ unter schwarz. Papier	
6. September 1898	11	12	1	2	3	4	5	$5^1/_2$		Uhr	Dauer der Besonnung
Culturen $10^1/_2$ Uhr ausgesetzt.	37°	42°	42°	42°	42·5°	35°	33°	31°		Temperaturgrade in der Sonne	7 Std.
	28°	41°	39°	39°	39°	38°	37·5°	35°		„ unter schwarz. Papier	
7. September 1898	10	11	12	1	2	3	4	5	$5^3/_4$	Uhr	Dauer der Besonnung
Culturen $9^1/_2$ Uhr ausgesetzt.	41°	44·5°	48·5°	48°	47°	47·5°	44·5°	44·5°	31·5°	Temperaturgrade in der Sonne	$8^1/_4$ Std.
	37°	40°	44°	49°	48°	46°	44·5°	40°	33°	„ unter schwarz. Papier	
8. September 1898	$9^1/_2$	$10^1/_2$	$11^1/_2$	$12^1/_2$	$1^1/_2$	$2^1/_2$	$3^1/_2$	$4^1/_2$	$5^1/_2$	Uhr	Dauer der Besonnung
Culturen $9^1/_4$ Uhr ausgesetzt.	37°	40°	45°	48°	49°	50°	48·5°	46°	37°	Temperaturgrade in der Sonne	$8^1/_4$ Std.
	30°	37°	41°	42°	41°	41°	39°	35°	22°	„ unter schwarz. Papier	
9. September 1898	$9^1/_2$	$10^1/_2$	$11^1/_2$	$12^1/_2$	$1^1/_2$	$2^1/_2$	$3^1/_2$	$4^1/_2$	$5^1/_2$	Uhr	Dauer der Besonnung
Culturen $9^1/_4$ Uhr ausgesetzt.	35°	40·5°	43°	44°	42°	44°	41·5°	40°	30°	Temperaturgrade in der Sonne	$8^1/_4$ Std.
	31°	37°	38·5°	45°	44°	42°	39·5°	39°	32°	„ unter schwarz. Papier	
10. September 1898.	$9^1/_2$	$10^1/_2$	$11^1/_2$	$12^1/_2$	$1^1/_2$	$2^1/_2$	$3^1/_2$			Uhr	Dauer der Besonnung
Culturen $9^1/_4$ Uhr ausgesetzt.	34·5°	44°	47°	47°	47°	42°	44°	Versuche beendet		Temperaturgrade in der Sonne	$6^1/_4$ Std.
	30°	40°	43°	44°	41°	37°	38°			„ unter schwarz. Papier	

a) **Sporenhaltiges Material auf Nährböden der Besonnung ausgesetzt.**

Die meisten Globig'schen Kartoffeln waren nach wenigen Stunden durch die Sonnenwirkung gebräunt, hatten sich gekrümmt und waren trotz des Verschlusses der Röhrchen mit Wattepfropf und Pergamentpapier eingetrocknet. Das durch Eintrocknen der Kartoffeln verdunstete Wasser hatte sich zum grossen Theile am Boden der Röhrchen condensirt. Diese Kartoffelculturen wurden in den ersten Tagen ausgeschaltet, nachdem die mikroskopische Untersuchung von Wachsthum nichts hatte erkennen lassen. — Am 30. VIII. 1898 wurden in drei Agarröhrchen des Bacillus VII im hängenden Tropfen einige schwach bewegliche Stäbchen gefunden. Es waren auf dem Schrägagar winzige, als Colonieen makroskopisch nicht erkennbare Pünktchen entstanden.

Eines dieser Röhrchen, sowie eines von jeder Bakterienart kam in den Thermostaten (56°). Nach ein- bis zweitägigem Aufenthalte in demselben zeigten auf Agar Bacillus I sehr geschwächtes, Bacillus II und VI gutes und auf den brauchbar gebliebenen Kartoffeln Bacillus III und IV gutes Wachsthum. Von vier mit Streptothrix inficirten Bouilloncolturen zeigte nur eine gutes Gedeihen dieses Pilzes; nicht gewachsen waren der oben erwähnte Bacillus VII und die Arten V und VIII.

Am 7. IX. früh untersuchte ich eine Kartoffelcultur von Bacillus IV; es gelang mir, einige normal entwickelte Bacillen zu sehen, desgleichen am Abend dieses Tages, als ich die aus der Sonne kommende Cultur sofort untersuchte. Makroskopisch war bei dieser Cultur wieder, wie auch auf denjenigen der übrigen Bakterien, nichts von Colonieenbildung zu erkennen; ich sah vielfach punktförmige Unebenheiten und Krystallausscheidungen und am unteren Ende des Schrägagars verhältnissmässig viel Agarwasser. Die mikroskopische Untersuchung der Culturen sämmtlicher Bakterienarten ergab wie bei Bacillus VII und IV die Anwesenheit weniger Stäbchen, die bisweilen an einander hingen und zum Theil granulirt waren, niemals aber sah ich Sporen. Diese Beobachtungen wurden in der Weise angestellt, dass ich mit einer kleinen Platinöse über die Oberfläche der Culturen hinstrich und mit dieser Oese den zu untersuchenden hängenden Tropfen inficirte. Die normal aussehenden Bacillen färbten sich gut, die granulirten lückenhaft. — Am 10. IX. wurde die mikroskopische Untersuchung wiederholt, sie ergab in sämmtlichen Röhrchen das gleiche Resultat. — Fortzüchtungsversuche in den Thermostaten von 62°, 56°, 37° und 22° hatten keinen Erfolg.

Da ich auf dem Agar und den brauchbar gebliebenen Kartoffeln niemals eine Anwesenheit von Sporen erkennen konnte, obgleich mit stark sporenhaltigem Material inficirt worden war, so nehme ich an, dass die

Sporen ausgekeimt waren und dass die aus diesen entstandenen Bacillen durch Besonnung abgetödtet oder doch so geschädigt waren, dass sie im Thermostaten nicht mehr weiter zu wachsen vermochten.

Auf den zur Controle mit sporenhaltigem Materiale inficirten Agarröhrchen war im Thermostaten üppiges Wachsthum aller Organismen eingetreten, ebenso auf den Globig'schen Kartoffeln.

b) Sporenhaltiges Material auf Nährböden unter schwarzem Papier der Besonnung ausgesetzt.

Am 20. VIII. 1898 Abends (nach $10^1/_2$ stündigem Aufenthalte in der Sonnenwärme und längerer Zeit im Keller bei 18,5°), zeigten einzelne mit II und VI inficirte Röhrchen auf dem Agar beginnende Colonieenbildung, am 21. VIII. Abends, nach 18stündiger Anwesenheit in der Sonnenwärme, waren die Colonieen auf allen acht Agarröhrchen üppig, wie im Thermostaten entwickelt. In sämmtlichen vier Röhrchen von Bacillus II enthielten die Colonieen sporentragende Stäbchen in grosser Anzahl; Bacillus VI war zu Fäden vereinigt. — Ebenfalls am 21. VIII. Abends fand ich auf dem Schrägagar eines der mit Bacillus I inficirten vier Röhrchen sehr kleine Colonieen, die aus normal aussehenden Stäbchen, kurzen Fäden und vielen granulirten Bacillen bestanden; am 22. VIII. waren diese Colonieen makroskopisch nicht grösser geworden; die übrigen drei Röhrchen des Bacillus I liessen nichts von Wachsthum erkennen. — Am 20. VIII. Abends bemerkte ich Wachsthum in den vier mit Sporen und Fäden der thermotoleranten Streptothrix inficirten Bouillonröhrchen; das Wachsthum war auch am 21. VIII. und an den folgenden Tagen deutlich weiter zu verfolgen. — Vom 23. VIII. Mittags bis zum 2. IX herrschte meist trübes oder nur in kurzen Pausen sonniges Wetter, so dass ich die Culturen bis zum 2. IX., wie die Tabelle angiebt, die längste Zeit im Keller halten musste. Bis zu diesem Tage war auf den Culturen mit Ausnahme der oben beschriebenen makroskopisch nichts von Wachsthum zu erkennen. Am 2. IX. und vom 5. bis 10. IX. incl. war wieder für die Versuche günstiges Wetter eingetreten. — Am 7. IX. hatte ein mit Bacillus VIII. inficirtes Agarröhrchen winzige, punktförmige Colonieen. Am Morgen und am Abend dieses Tages fand ich im hängenden Tropfen einige gut ausgebildete Bacillen.

Dieses Röhrchen kam zur Beobachtung der Lebensfähigkeit der Bacillen am Abend des 7. IX in den Thermostaten, ebenso die mit Streptothrix inficirten Agarröhrchen, die im Gegensatz zu den Bouilloncolturen makroskopisch kein Wachsthum erkennen liessen. Anderen Tages waren bei Bacillus VIII deutlich Colonieen erkennbar, bei der Streptothrix in allen vier Röhrchen am darauf folgenden Tage.

Am 8. IX. Abends hatten von vier Kartoffelculturen zwei den für Bacillus VIII charakteristischen, gelbbraunen, feuchten Belag; in diesem wurden sehr viele Bacillen mit und ohne Sporen vorgefunden, auch viele Involutionsformen und freie Sporen. Bis zum 9. IX. hatten von den neun beobachteten Mikroorganismen fünf makroskopisch gut erkennbares Wachsthum gezeigt, nämlich die Streptothrix in Bouillon, die Thermobakterien I, II, VI und VIII auf Agar und VIII ausserdem auf Kartoffeln. Am 10. IX. Abends wurde der Versuch beendet und die Culturen der kein Wachsthum zeigenden Arten im hängenden Tropfen untersucht. Es zeigten:

Bac. III	(4 Röhrchen	Agar)	— normale und granulirte Bacillen und freie Sporen.
„ IV	„	„	— normale Bacillen, Krümmel und freie Sporen.
„ V	„	„	— normale Bacillen, Krümmel, Bacillen mit Sporen und freie Sporen.
„ VII	„	„	— wenig normale Bacillen, Krümmel und freie Sporen.
„ III	(4 Röhrchen	Kartoffel)	— viele freie Sporen.
„ IV	„	„	— normale Bacillen, kurze Fäden, Bacillen mit Sporen und freie Sporen.
„ VII	„	„	— viele freie Sporen.

Je eines der vier Röhrchen der Arten III, IV, V und VII kam nach der mikroskopischen Untersuchung in den Thermostaten, alle Bacillen wuchsen darin üppig weiter.

Man vergleiche die Resultate der unter dieser Rubrik verzeichneten Versuche mit den unter der vorigen angeführten. Hier ergiebt die Untersuchung der Culturen, bei welchen ebenfalls ein Wachsthum makroskopisch nicht erkennbar war, neben normalen und granulirten Bacillen die Anwesenheit freier Sporen, welche im Thermostaten auskeimen und üppiges Wachsthum herbeiführen. — Es ist wahrscheinlich, dass auch bei einigen dieser Arten unter dem schwarzen Papiere in der Sonne beschränkte Weiterentwickelung stattgefunden hat. Für diese Annahme spricht die Anwesenheit normal ausgebildeter Stäbchen und kurzer Fäden.

c) Sporenhaltiges Material, an Deckgläschen angetrocknet, der Besonnung ausgesetzt.

Um die Widerstandsfähigkeit der trockenen Sporen gegen Besonnung zu prüfen, wurden die mit sporenhaltigem Material inficirten Deckgläschen in Petri'schen Schalen der Belichtung ausgesetzt. Nur die Sporen des

Bacillus IV wurden aus äusseren Gründen nicht untersucht. Nach 13- bis 14stündiger Einwirkung der Sonne wurden die Deckgläschen auf Agarplatten ausgelegt und letztere in den Thermostaten gebracht. Es wuchsen auf der Agarplatte Bacillus V und die Streptothrix gut, die Bacillenarten I und II zeigten erkennbares, aber deutlich geschwächtes Wachsthum; die Arten III, VI, VII und VIII gediehen nicht. — Nach 22stündiger Besonnung keimte auch Bacillus V nicht mehr aus, nach 30stündiger zeigten die Arten I, II und die Streptothrix dasselbe Wachsthum wie nach 13- bis 14stündiger Einwirkung der Sonnenstrahlen.

Zur Controle wurden mit demselben Materiale und zu gleicher Zeit inficirte, nicht besonnte Deckgläschen auf Nährböden gleicher Herkunft ausgelegt und bei 56° im Thermostaten gehalten. Alle sieben Arten und die zu gleicher Zeit mit untersuchte Streptothrix zeigten auf den Controlplatten am anderen Tage Wachsthum, Bacillus III nicht immer; unter sechs ausgelegten Deckgläschen war nur von vieren Wachsthum ausgegangen, bei weiteren fünf Controldeckgläschen von Bacillus III, die später noch einmal ausgelegt wurden, von allen.

Die Ansicht Globig's, dass die Sonnenwärme auf das Wachsthum der Thermobakterien einen fördernden Einfluss ausübe, ist nach dem Ausfalle dieser Versuche für manche Arten thermophiler und thermotoleranter Bakterien begründet, denn diese Mikroorganismen, die zum Theil bei Zimmertemperatur zu vegetiren vermögen, finden in geeigneten Nährsubstraten an der Sonne die genügende Wärmemenge zur Weiterentwickelung und vielfach auch zu der die Fortpflanzung bedingenden Sporenbildung. Für das Gedeihen ist jedoch erforderlich, dass die Bakterien und ihre Sporen vor unmittelbarer Belichtung geschützt sind, da diese, wie wir aus den angestellten Versuchen ersehen haben, nicht allein die Stäbchen-, sondern auch die Dauerformen schädigt oder tödtet. In den oberen Erdschichten unter faulenden Pflanzentheilen, geschützt vor den directen Strahlen der Sonne, werden manche Thermobakterien zu gewissen Zeiten im Sommer wachsen können; kommen sie oder ihre Sporen in länger andauernde höhere Temperatur, so vermögen sie zu rascherer Entwickelung und Sporenbildung zu gelangen. Für die thermotoleranten Bakterien genügt zur Fortpflanzung schon die Wärme des Thierkörpers.

Versuche über Pathogenität.

Die acht beschriebenen Bacillenarten habe ich in Ermangelung anderen Materiales auf Pathogenität für Hausmäuse geprüft. Die Bakterien erwiesen sich bei intraperitonealer und subcutaner Infection als nicht pathogen für diese Thiere, denn letztere zeigten keinerlei Krankheitssymptome.

Gährung erregende Thermobakterien.

Zum Schlusse dieses Theiles möchte ich noch auf die von Schillinger bearbeiteten thermotoleranten Bakterien zurückkommen. Wie bereits mitgetheilt, fand Schillinger in Milch, einfacher, Traubenzucker- und Milchzuckerbouillon bei 66° reichliche Gährungserscheinungen, wenn er diese Nährmedien mit Erde verschiedener Herkunft versetzte; eine Isolirung der in den gährenden Flüssigkeiten vorhandenen Bakterien auf Agarplatten gelang bei 66° nicht. Durch Plattencultur bei 37° erhielt Schillinger vier Arten in Reincultur; die isolirten Bakterien vermochten alle nicht mehr bei 66°, wohl aber bei 37° Gährung hervorzurufen. Bei 37° wuchsen sie auf Agar gut, bei 66° zeigten sie zunächst wohl gutes, aber bei weiteren Uebertragungen immer schwächer werdendes Wachsthum. — Den Schillinger'schen Versuch wiederholte ich, erhielt aber durch Versetzen mit Erde aus dem Garten und von der Strasse, mit Kehricht aus den Räumen des Institutes, mit Abwasser einer Brauerei bei 66° und 62° in den mit Traubenzuckerbouillon gefüllten Gährröhrchen in nur zwei von zehn Fällen die von Schillinger geschilderte reichliche Gasentwickelung. Eines der beiden, mit gedüngter Gartenerde gleicher Herkunft versetzten Gährröhrchen zeigte nach 24 Stunden besonders starke Gährungserscheinungen bei 66°. Aus dieser gährenden Flüssigkeit suchte ich die Erreger der Gährung durch das Plattenverfahren zu isoliren, indem ich die möglichst gleichmässig inficirten Platten bei 66°, 57° und 37° hielt. Auf den Plattenculturen bei 66° konnte ich wie Schillinger Wachsthum nicht bemerken, wohl aber auf denjenigen, welche in den auf 57° und 37° eingestellten Thermostaten gehalten waren. Ein Unterschied im Wachsthum der bei den beiden Temperaturgraden entstandenen Colonieen war nicht erkennbar; die Colonieen nahmen langsam an Ausdehnung zu. Die gleichmässig aussehenden Colonieen enthielten nur eine Bacillenart, wie das mikroskopische Bild und das Wachsthum auf verschiedenen Nährböden erkennen liessen. In Reincultur wuchs dieser Bacillus gut bei 22°, jedoch langsamer als bei 37°; bei 57° war das Wachsthum am üppigsten, bei 66° sehr kümmerlich. Bei letzterer Temperatur war nichts von Sporenbildung erkennbar, wohl aber bei 57°, 37° und 22°. In Gährröhrchen mit Traubenzuckerbouillon entstand bei 66° sehr geringe, bei 22° etwas bessere Gasentwickelung; bei 37° war die Entwickelung gut, bei 57° jedoch vielleicht dreimal so stark wie bei 37°. — Diesen Gährung erregenden Bacillus betrachte ich mit Schillinger als ein thermotolerantes Bacterium, welches aber bei hoher Temperatur schneller wächst und lebhaftere Zellthätigkeit zeigt als bei niederer. Die Temperatur von 66° überschreitet das für diesen Bacillus geltende Wachsthumsoptimum; das letztere dürfte wohl zwischen

50° und 60° liegen; bei 66° vermag der Bacillus nicht mehr Sporen zu bilden. Diese habe ich auch nicht gefunden in Präparaten, welche von der mit Erde versetzten, bei 66° gährenden Flüssigkeit angefertigt waren. Es ist möglich, dass der gefundene Bacillus in der mit Erde versetzten Bouillon anfangs lebhafte Thätigkeit entfaltete und dann durch unbekannte Einflüsse geschädigt wurde. Hierfür spricht das langsame Colonieenwachsthum auf den von der gährenden Flüssigkeit angelegten Platten bei 57° und 37° gegenüber dem Wachsthum der bei letzteren Temperaturgraden gezüchteten Reinculturen. Dass eine Schwächung der Lebensthätigkeit des Bacillus vorliegt, beweist ebenfalls der Umstand, dass auf den mit der gährenden Flüssigkeit inficirten Platten bei 66° kein Wachsthum entsteht, während die mit sporenhaltigem Materiale inficirten Reinculturen desselben Bacillus bei dieser hohen Temperatur immerhin erkennbares Fortkommen zeigen. — Die von Schillinger beobachteten Bakterien verhalten sich anscheinend ähnlich wie das von mir beschriebene, Gährung erregende thermotolerante Bakterium. Da erstere in Reinculturen bei 66° allmählich absterben, lässt sich folgern, dass sie Sporen bei dieser Temperatur nicht zu bilden vermochten. (Schillinger hat die Wachsthumsverhältnisse nicht eingehend studirt.) Das Auswachsen zu langen Fäden ist aber wohl keine Involutionserscheinung, wie Schillinger annimmt, da die Fadenbildung bei den Thermobakterien vielfach der Sporulation vorausgeht. — Man ist nicht berechtigt, wie das Schillinger auf Grund seiner Untersuchungen zu thun scheint, anzunehmen, dass sämmtliche Thermobakterien auch bei niedrigeren Temperaturgraden günstige Entwickelungsbedingungen finden und dass sie nur die Lebenszähigkeit besitzen, hoher Temperatur Widerstand zu leisten. Diese Annahme trifft für die thermotoleranten Bakterien, nicht aber für die thermophilen zu, denn letztere zeigen bei Zimmertemperatur und derjenigen des Thierkörpers höchstens kümmerliches Wachsthum und sind namentlich bezüglich der Sporulation auf hohe Temperaturgrade angewiesen. — Es ist allerdings eine bemerkenswerthe Erscheinung, dass man mit Erde in Traubenzuckerbouillon und anderen Flüssigkeiten bei 66° lebhafte Gährung erhält, während dies mit Reinculturen, welche aus den gährenden Flüssigkeiten gewonnen wurden, nur in ganz geringem Grade erreicht wird. Es wäre durch Versetzen der betreffenden Flüssigkeiten mit steriler Erde und der Reincultur der Gährungserreger noch zu prüfen, ob der Nährboden durch die in der Erde enthaltenen Salze u. s. w. günstigere Eigenschaften für das Gedeihen der Gährungserreger erhält. Auch wäre es möglich, dass andere, bisher dem Nachweise entgangene Thermobakterien bei der Gährung mitwirken. Aus äusseren Gründen konnte ich mich mit der Lösung dieser Fragen nicht mehr beschäftigen.

Schlussfolgerungen.

Fassen wir die Resultate vorstehender Untersuchungen kurz zusammen, so ergiebt sich für die bearbeiteten Bakterien:

1. Die Thermobakterien lassen sich in thermophile und thermotolerante scheiden, wenn auch die Grenze nicht scharf ist.

2. Wachsthums-Grenzen und Optimum der Temperatur sind für die einzelnen Arten verschieden.

3. Die Sporenbildung erfolgt bei den Thermobakterien nach stattgehabter üppigster Entwickelung.

4. Die vegetativen Formen der Thermobakterien sterben leicht ab (besonders bei Temperaturerniedrigung).

5. Aërob ist das Wachsthum bei hoher und niederer Temperatur für die von mir geprüften Arten stets besser als bei Ausschluss des Sauerstoffes. Obligat anäerobe Thermobakterien wurden nicht gefunden.

6. Kohlensäure wirkt nur dann und auch nur auf einzelne Arten schädigend, wenn der Sauerstoff vollständig fehlt.

7. Die Sonnenwärme ist bei uns im Sommer unter Umständen selbst für das Wachsthum der thermophilen Bakterien genügend; dagegen wirkt

8. intensive Belichtung sowohl auf die vegetativen, als auch auf die Dauerformen schädigend oder tödtend.

9. Die Sporen sind gegen Austrocknen widerstandsfähig, einerlei bei welcher Temperatur sie gebildet wurden.

10. Die Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen strömenden Wasserdampf schwankt innerhalb weiter Grenzen. Die bei hoher Temperatur gebildeten Sporen ein- und derselben Art sind stets widerstandsfähiger, als die bei niederer entstandenen.

11. Die Sporen verhalten sich im Aufnehmen der Anilinfarben verschieden und sind im Allgemeinen nicht so leicht färbbar, wie bis dahin angenommen wurde.

12. Parallelismus zwischen Widerstandsfähigkeit der Sporen und Färbbarkeit besteht nicht.

13. Unter den Thermobakterien existiren Arten, welche ähnlich dem Tuberkelbacillus die aufgenommene Farbe Salzsäure-Alkohol gegenüber festhalten.

III. Eine noch nicht beschriebene thermotolerante Streptothrix.

Bisherige Veröffentlichungen über thermophile Streptothrixarten.

In seiner Arbeit über Thermobakterien berichtet zuerst Globig[1] über eine thermophile Streptothrix, deren weisse, wie Kreide aussehende Colonieen fast stets auf Kartoffeln vorkamen, die mit Erde bestreut und bei 58° gehalten wurden. Im gefärbten Präparate sah er echte Verzweigungen, an welchen runde, kokkenartige Körperchen sassen, die sich der Farbe weniger leicht zugänglich als die Fäden erwiesen.

Kedzior[2] hat dann im Spreewasser und im Wasser von Cloaken eine weitere Art mit echten Verzweigungen gefunden, die er Cladothrix nannte; nach neuerer Forschung dürfte es sich hier ebenfalls um eine Streptothrix gehandelt haben.[3] Die an den Luftfäden entstehenden runden Körperchen nennt Kedzior Sporen und fand sie sehr resistent gegen Austrocknen, Besonnung, chemische Desinfectionsmittel und strömenden Wasserdampf. Selbst nach vierstündigem Erhitzen in letzterem waren sie noch nicht abgetödtet. Die Wachsthumsgrenzen des Pilzes liegen bei 35° und 65°; Kedzior beobachtete Eigenbewegung der Fäden, Schwärmen von Stäbchen und Sporen an dem facultativ anaërob wachsenden Pilze.

Ueber eine weitere, von Pretti gefundene und von Günther in seinem Lehrbuche erwähnte thermophile Streptothrix habe ich in der mir zugängigen Litteratur nähere Angaben nicht gefunden.

Herkunft der vom Verfasser untersuchten Streptothrixart. Wachsthums-Optimum und -Maximum. Gedeihen anaërob.

Bei der von mir aus ungekochter Milch isolirten thermotoleranten Streptothrix ist eine Bevorzugung bestimmter Nährböden nicht zu bemerken. Aërob wächst dieser Mikroorganismus bei 22° sehr langsam, rascher bei 37°, am besten bei 55°, nicht mehr bei 62°. — Anaërob kommt er bei 55° langsamer fort als bei 37°. Bei letzterer Temperatur und bei 22° erfolgt das Wachsthum aber stets rascher anaërob als aërob. Versuche, den Pilz in der Kohlensäureatmosphäre zu züchten, ergaben ein negatives Resultat, ebenso wuchs er nicht, nachdem die Plattenculturen, welche drei Tage in der Kohlendioxydatmosphäre bei 55° gestanden hatten, bei dieser Temperatur aërob gehalten wurden.

---

[1] *Diese Zeitschrift.* 1888. Bd. III. S. 303.
[2] *Archiv für Hygiene.* 1896. Bd. XXVII. S. 328.
[3] Günther, a. a. O. 1898. S. 22.

Wachsthum auf Agar.

Makroskopisch zeigen die jüngsten Colonieen auf Agarplatten vielfach strahliges Wachsthum; die etwas weiter entwickelten sind theils rund, glatt, mattweiss oder haben rauhe, warzenartige, gelbliche Hervorragungen. Die Colonieen sind elastisch fest, mit dem Platindrahte kaum zerreissbar. Nach ca. 20stündigem Aufenthalte bei 55° haben sie einen Durchmesser von 3 bis 4 mm. Mehrere Tage alte Colonieen sind häufig in der Consistenz gelockert und bilden schmierig schleimige oder blasige Massen, die sich mit dem Platindraht leicht zertheilen oder abheben lassen. Zwei bis drei Tage bei 55° gehalten, zeigen viele Colonieen einen verschiedenfarbigen, schimmelartigen Anflug; die Culturen riechen dann schimmelig, während dieselben auf einfachem Agar vor Bildung dieses Anfluges einen süsslich dextrinartigen und auf Glycerinagar einen saueren Geruch haben.

Die mikroskopische Besichtigung ergiebt, dass die jungen Colonieen aus zahlreichen, sehr langen homogenen Fäden mit echten Verzweigungen bestehen, die älteren schmierig schleimigen dagegen aus kürzeren geraden und gekrümmten Stäbchen; dazwischen befinden sich bisweilen runde und ovale Formen. Diese Bruchstücke sind wie die Fäden unbeweglich und haben oft stärkeren Durchmesser, als Fäden aus jungen Colonieen.

Wachsthum auf Kartoffeln.

Die Kartoffeln werden in der Mehrzahl der Fälle von dem Mycel durchwachsen und bekommen dabei ein schwarzes Aussehen, zuweilen kommen aber auch in ähnlicher Weise wie auf Agar mattweisse glatte und gelbbraune warzige Colonieen, sowie leicht zertheilbare, schmierig gelbbraune Massen mit schwarzen (siehe Taf. VI) oder baumflechtenartigen (siehe Taf. VI) Auflagerungen vor.

Wachsthum auf flüssigen Nährböden.

In den gebräuchlichen flüssigen Nährmedien ist das Fortkommen stets ein gutes. Inficirt man Bouillonröhrchen mit dem schimmelartigen Belage, so entsteht bei geringer Einsaat zunächst an der Oberfläche ein weisser, dem Glase anhaftender Ring, der sich später zu einem die ganze Oberfläche überziehenden Häutchen ausbreitet, das sich als aus vielen kleinen, zartflockigen, vielfach mit einander verfilzten Colonieen zusammengesetzt erweist. Impft man reichlich, so bleibt das ringförmige Wachsthum aus und es kommt gleich zur Bildung eines Häutchens, dessen Randpartieen jedoch immer dicker sind als die inneren. Bei ruhigem Stehen der Reagensgläschen bildet sich auf diesen Colonieen nach einigen Tagen wieder der schimmelartige, weisse oder graue Belag. Unter Klarbleiben der Bouillon entstehen gleichzeitig in der Tiefe derselben, am Boden und an der Wandung leicht anhaftende, weisse, flockige Colonieen.

Chemische Veränderungen der Nährsubstrate.

In den Nährböden finden durch das Wachsthum dieser Streptothrix verschiedene chemische Veränderungen statt; Gelatine wird bei 56° nach zwei bis drei Tagen, bei 22° nach einigen Wochen peptonisirt, Glycerinagar riecht sauer nach Zersetzungsproducten des Glycerins. Milch wird zur Gerinnung gebracht und hat dann schwach alkalische Reaction, während Controlen schwach sauer reagirten. In 1procent. Stärkebouillon entsteht auf Zusatz von Jod nach einiger Zeit keine Blaufärbung mehr wie bei Controle, sondern Rothvioletfärbung. Ebenso tritt in eiweissfreier Uschinsky'scher Salzlösung, die Zusatz von 0·5 Procent Weizenstärke erhalten hatte, nach Einwirkung des Mikroorganismus mit Jod-Jodkaliumlösung Rothfärbung ein. Diese Reactionen lassen auf Bildung von Erythrodextrin schliessen. Dass die zugesetzte Stärke nicht mehr als solche vorhanden ist, lässt das klare Aussehen der inficirten Flüssigkeit schon bei einfacher Besichtigung erkennen, denn die Controlflüssigkeit bleibt trüb. Mit der Trommer'schen und Nylander'schen Probe, sowie mit Phenylhydrazin gelang es mir niemals, in diesen Nährböden Bildung von Traubenzucker nachzuweisen.

Conidien- oder Sporenstand.

Der erwähnte, nach zwei bis drei Tagen auftretende schimmelartige, auf der Agarplatte weiss oder mausgrau, auf den etwas eingetrockneten Enden der Globig'schen Kartoffeln wie graugelbe Erde aussehende Belag der Colonieen besteht aus verzweigten Luftfäden, die dicker sind (0·6 bis 0·8 μ), als die im Nährsubstrate befindlichen (0·3 bis 0·5 μ). Die Luftfäden haben bisweilen runde oder keulenförmige Verdickungen, meist aber streptokokkenartig an einander gereihte, runde oder ovale, zusammenhängende Conidien oder Sporen. Die Sporenreihen sind vielfach korkzieherartig gewunden. Die Sporen haben im Durchmesser 0·5 bis 0·8μ.

Keimung der Sporen.

Das Auskeimen der Sporen lässt sich im hängenden Tropfen von Bouillon oder Gelatine schon nach zwei Stunden bei 56° erkennen; die Keimfäden wachsen analog dem Vorgange bei Fadenpilzen aus den Sporen meist nach einer, vielfach auch nach zwei Seiten hervor (siehe Taf. VI). Die Ausläufer beginnen sich alsbald zu verästeln, erstrecken sich strahlig nach allen Richtungen und verfilzen sich mit Ausläufern anderer Colonieen. Bei Cultivirung im hängenden Tropfen treten die Fäden oft über dessen Rand in die umgebende Luft hinaus und erscheinen dann breiter als die im feuchten Substrate befindlichen. Die Bildung von Sporen war in diesen Luftfäden nicht festzustellen, wenn auch die letzteren manchmal granulirt erschienen.

Herkunft	Form und Grösse	Beweglichkeit	Färbeverhalten	Sporen oder Conidien	Chemisches Verhalten
Streptothrix.					
Aus ungekochter Milch	Echte Verzweigungen. Lange Fäden von 0·3 bis 0·5 μ Breite, die Luftfäden breiter = 0·6 bis 0·8 μ. An den Enden bisweilen längliche bis runde keulenförmige Verdickungen	Nicht zu bemerken.	Gut mit den gebräuchlichen Farbstoffen und nach Gram. Die Fäden geben m. Anilinwasserfuchsin gefärbt die rothe Farbe erst an 3 procent. Salzsäurealkohol ab, nicht an einfachen. Oft sind in den Fäden einzelne Theile stärker gefärbt und zeig. Gliederung in Stäbchen; zuweilen enthalten sie auch dunkler gefärbte Kügelchen. Diese Erscheinung zeigen die Fäden im feuchten Substrat	Sie entstehen aus den Lufthyphen durch Segmentation und erscheinen streptokokkenartig an einander gereiht. Sie sind rund oder oval und haben 0·5 bis 0·8 μ Durchmesser. Die Sporenreihen sind korkzieherartig gewunden und schwerer färbbar als die Hyphen. Die Keimung d. Sporen lässt sich im hängenden Tropfen beobachten, sie erfolgt meist nach 2 Seiten und ist bei 56° schon in der zweiten Stunde sichtbar. Die Sporen starben regelmässig ab nach 5 Secunden im strömenden Dampf. An Deckgläsern angetrocknet waren sie nach 4 Monaten noch keimfähig. — 3 Min. mit heissem Carbolfuchsin gefärbt, dann 1 Minute mit 3 procent. Salzsäurealkohol behandelt und $^1/_2$ Min. mit Methylenblau nachgefärbt, erscheinen einzelne grössere Sporen roth (0·6 bis 0·8 μ im Durchmesser), die anderen blau (0·5 bis 0·6 μ im Durchmesser). Rothe und blaue Sporen hängen öfters fest an einander.	Milch wird schwach alkalisch und gerinnt. Gährungserscheinungen nicht zu bemerken. — Gelatine wird peptonisirt. — In Stärkebouillon tritt auf Zusatz von Jodlösung Rothviolettfärbung ein, die Reaction ist stärker alkalisch als Controle. In mit 0·5 Proc. Stärke versetzter Uschinsky'scher Lösung entsteht nach 6 Tagen auf Jodzusatz Rothfärbung (Erythrodextrin); Zucker konnte mit verschiedenen Reagentien nicht nachgewiesen werden.

Wachsthum bei hoher und niederer Temperatur

Agar (Platten-, Schräg- und Stichculturen), Glycerinagar, 2 Proc. Traubenzuckeragar und Gelatine	Kartoffel	Peptonbouillon	Peptonkochsalzlösung	Milch	Harn (alk.)	Wachsthum, anaërob
56°: Weisse, mattglänz. Col. von zäher, elast. Consist., spät. m. kreideweissen od. hellgrauen, sporentragenden Lufthyphen bedeckt; öfters auch warzige, gelbl. Colon. Aeltere Colon. zeigen häufig Lockerung der elastischen Consistenz, bilden dann einen zähen gelbbr. Schleim oder blasige Massen u. sind bisweilen bedeckt mit schwärzlichen Auflagerungen. Solche Colon. zeigen mikroskopisch zerfall. Fäden. — Auf Schrägculturen u. auf der Oberfläche v. Stichculturen finden sich die gleichen Wachsthumserscheinungen, im Stichcanal entstehen oft kleine runde, weisse Colon. Die Culturen haben leimartigen Geruch. — Auf Glycerinagar und Traubenzuckeragar ist das Wachsthum gut, ersterer riecht nach Zersetzungsproducten des Glyc. — In Gelat. ist das Gedeihen gut.	**56°**: Die ähnlichen Colon., wie auf Agar, Sporenbelag häufig auch gelbbraun, wie Erde aussehend. Zuweil. schmieriger, braungelber Belag m. schwarzen oder grauen baumflechtenartigen Auflagerungen. Die Kartoffel wird häufig von d. Hyphen durchwachs., bekommt dann ein schwarzes Aussehen, und ist an einigen Stellen von weissen Lufthyphen mit Sporen bedeckt.	**56°**: Mit Sporen inficirt, an der Oberfläche allmählich dichter werdendes weisses Häutchen, das nach 2 bis 3 Tagen Sporen bildet. — In der Tiefe d. Bouillon wächst der Pilz zu zarten, weissen, schwammartig, sich nach allen Richtung. gleichmäss. ausdehnenden Colon. aus. Diese setzen sich häufig fest an die Wandung der Röhrch. an; die übrige Bouillon bleibt klar.	**56°**: Wachsthum gut, wie in Bouillon	**56°**: Wachsthum gut, die Milch wird bisweilen gelbbraun, hat schwach alkalische Reaction u. gerinnt.	**56°**: Wachsth. gut, wie in Bouillon, doch nicht so üppig, ebenso in eiweissfreier Uschinsky'scher Salzlösung.	**56°**: Wachsth. gut, doch nicht so üppig als aërob.
37°: Wachsthum gut, doch langsamer als bei 56°. Die Colon. bleiben häufig klein u. es tritt Erweichung d. Consist. ein. Bei dieser Temp. werd. ebenfalls Sporen an Lufthyphen gebild.	**37°**: Meist warzige Col., vielf. weisse oder graue Lufthyphen mit Sporen. Wächst langs. als bei 56°.	**37°**: Langsamer als bei 56°, in der Form ebenso.	**37°**: Langsames Wachsthum.	**37°**: Die gleichen Erscheinungen wie bei 56°, nur langsameres Wachsth.	**37°**: Wächst langsamer als bei 56°.	**37°**: Wächst rascher als als anaërob bei 56° und aërob bei 37°.
22°: Wachsth. gut, doch sehr langsam. Sporen niemals beob. Gelatine wird sehr langsam peptonisirt, hat klares Aussehen, nur am Boden d. Röhrchen finden sich wenige, allmähl. m. d. Zunahme der Verflüss. zu Boden gesunk. Col. Die Peptonisir. beginnt an der Stichmündung.	**22°**: Wachsthum sehr langsam. Keine Sporen.	**22°**: Wachsth. viel langsamer als bei 37°.	**22°**: Wachsthum viel langsamer als in Bouillon	**22°**: Wie bei 37°, doch langsameres Gedeihen.	**22°**: Langsamer wie bei 37°.	**22°**: Auf Agar und Gelatine schneller als aërob. Gelatine wird rasch peptonisirt.

Widerstandsfähigkeit der Sporen.

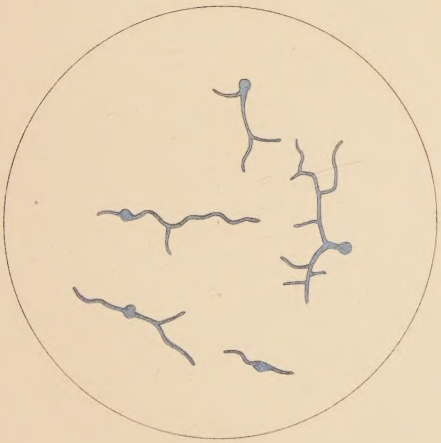
Die an Deckgläschen angetrockneten Sporen sind nach 5 bis 10 Secunden dauernder Einwirkung strömenden Wasserdampfes abgetödtet, ebenso nach einminutiger Einwirkung feuchter Wärme von 90 °. Bei Zimmertemperatur im Dunkeln aufbewahrt, hatten sie nach vier Monaten noch Keimfähigkeit, desgleichen nach 22stündiger Bestrahlung durch die Sonne (ein an der Kugel geschwärztes Thermometer zeigte während der Dauer der Besonnung als Maximum 56°, als Minimum 30°). — Die von mir nach dem Vorgange von Kedzior u. A. als Sporen angesprochenen runden Körperchen (Conidien) zeigen nicht in demselben Grade Lichtbrechung, wie man sie an Bacillensporen zu sehen gewohnt ist.

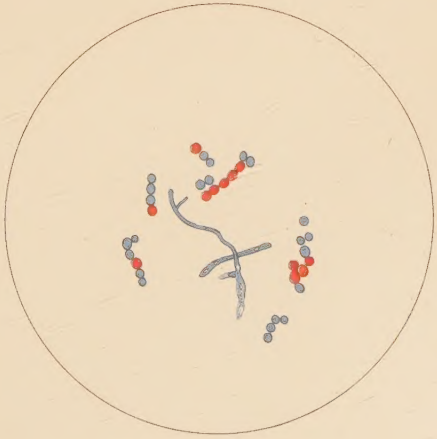
Die Fortpflanzung dieses Mikroorganismus erfolgt also einmal durch die an den Lufthyphen sich abgliedernden Sporen, dann aber auch durch Theilung und zwar sowohl der jungen, dünnen Fäden, wie der aus den älteren Fäden hervorgehenden dicken Bruchstücke.

Verhalten gegen Farbstoffe.

Während die jungen Fäden leicht und gleichmässig die Anilinfarben annehmen, befinden sich unter den erwähnten Bruchstücken neben gut durchgefärbten solche, welche sich der Farbe weniger gut zugänglich erweisen. Die Luftfäden wechseln in ihrer Zugänglichkeit für die Farben; alle Bestandtheile des Pilzes geben dieselben bei kurzer Behandlung nicht an einfachen, wohl aber an Säurealkohol ab. — Die Streptothrix färbt sich nach Gram. — Nach drei Minuten dauernder Einwirkung von Carbolfuchsin, einminutigem Entfärben in 3procent. Salzsäurealkohol waren die Fäden und ein grosser Theil der Sporen entfärbt. Nach weiterem Färben mit Methylenblau (eine halbe Minute) zeigten sich die Fäden und ein grosser Theil der Sporen blau, ein anderer Theil der letzteren roth. Die roth gefärbten Sporen erscheinen grösser und entwickelter als die blauen; rothe und blaue Sporen hingen oft noch in der Reihe an einander (siehe Taf. VI).

Die beigegebenen Zeichnungen hat Hr. Dr. phil. Rob. Müller aus Giessen ausgeführt; ich erlaube mir ihm für die erwiesene Freundlichkeit meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.





Dr R M f. Verlag Veit & Comp. Leipzig. Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig.